

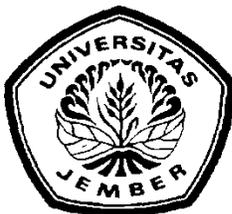
**Efektivitas *Chlorhexidine* sebagai Inhibitor MMP-2 dan MMP-9
dalam Proses Dermonekrosis Akibat Racun
Kumbang Tomcat (*Paederus* sp.)**

Pustaka Kesehatan Vol 5 No 1: 12-19
Januari 2017

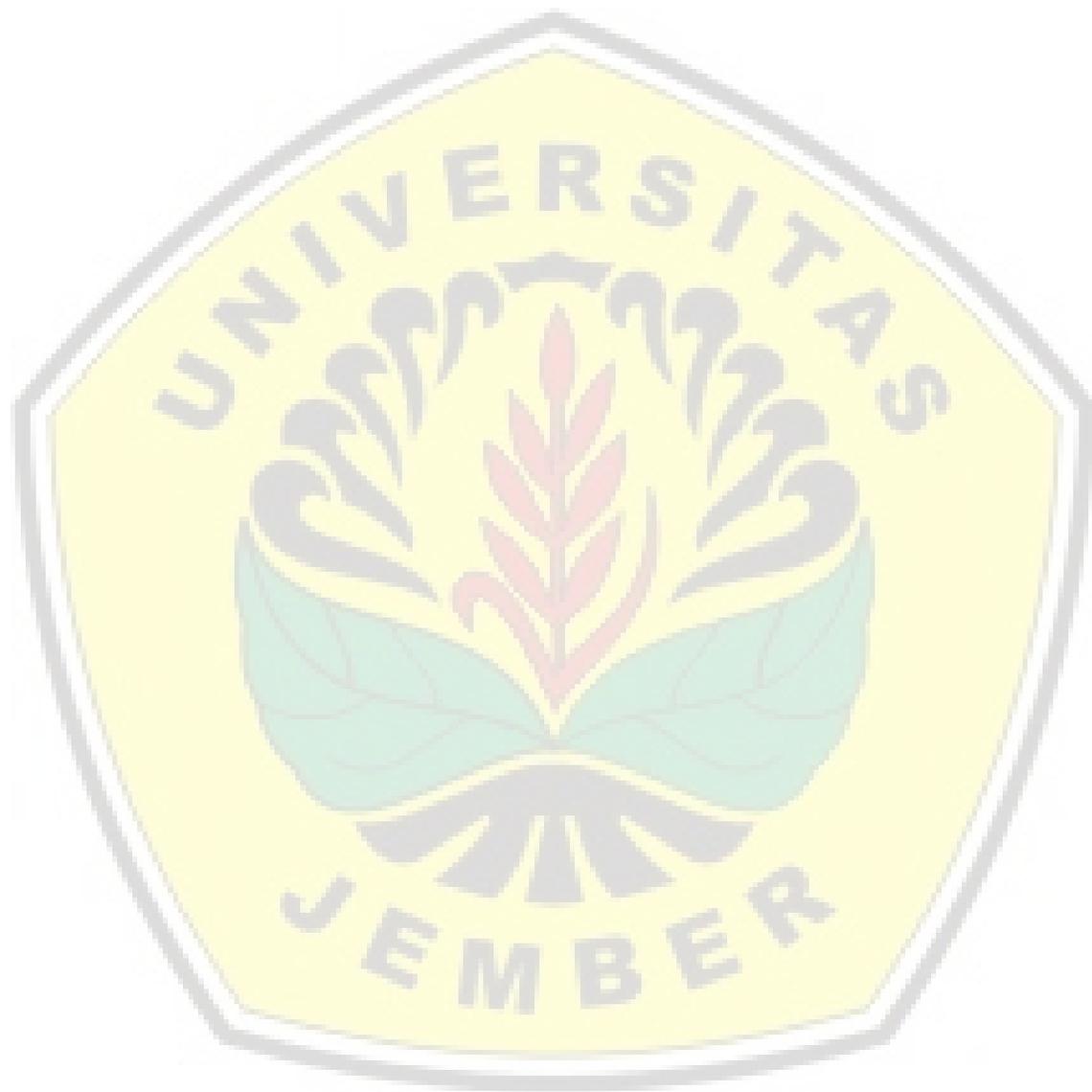
Oleh:

dr. Al Munawir, M.Kes, PhD.

NIP. 196909011999031003



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN
PENDIDIKAN TINGGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER**



FOCUS AND SCOPE

e-Journal Pustaka Kesehatan is an electronic journal with the ISSN: 2355-178X that publishes articles in the field of Health Sciences including Medicine, Dentistry, Public Health, Pharmacy, and Nursing. It is a national peer-reviewed and open access journal. We receive research article, review and case report. Articles sent have never been published or not in the publishing process in other scientific journals. e-Journal Pustaka Kesehatan has been indexed in Google scholar and Crossref.

ONLINE SUBMISSIONS

ADDITIONAL MENUS

[Focus And Scope](#)

[Author Guidelines](#)

[Editorial Team and Reviewer](#)

[Article Processing Charges](#)

[Open Access Policy](#)

[Journal SOP](#)

[Retraction](#)

[Archive](#)

[Journal Contact](#)

EDITORIAL TEAM AND REVIEWER

Editor-in-Chief

[Dr.rer.biol.hum. dr. Erma Sulistyaningsih, M.Si.](#)

Faculty of Medicine University of Jember

Associate Editor

[Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.](#)

Faculty of Pharmacy, University of Jember

[drg. Sulistiyani, M.Kes.](#)

Faculty of Dentistry, University of Jember

[Erti Ikhtiarini Dewi, S.Kep., M.Kep., Sp.J.](#)

Faculty of Nursing, University of Jember

[Iken Nafikadini, S.KM., M.Kes.](#)

Faculty of Public Health, University of Jember

[dr. Zahrah Febianti, M.Biomed.](#)

Faculty of Medicine University of Jember

[Adistha Eka Noveyani, S.KM., M.P.H.](#)

Faculty of Medicine University of Jember

Reviewer

[Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes, Sp.Park.](#)

Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya

[drg. Dwi Prijatmoko, Ph.D.](#)

Faculty of Dentistry, University of Jember

[Dr. Soegeng Wahlujo, drg. M.Kes., Sp.KGA\(K\).](#)

Faculty of Dentistry, Univesitas Airlangga

[Dr. Edy Meiyanto, M.Si., Apt.](#)

Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada

[dr. Ancah Caesarina N M, Ph.D.](#)

Faculty of Medicine University of Jember

[dr. Supangat, M.Kes., Ph.D. Sp.BA](#)

Faculty of Medicine University of Jember

[Antonius Nugraha Widhi P., S.Farm., Apt., M.P.H.](#)

Faculty of Pharmacy, University of Jember

[Lusia Oktora RKS., S.F., M.Sc., Apt.](#)

Faculty of Pharmacy, University of Jember

[Tantut Susanto, S.Kep., M.Kep., Sp.Kep.Kom., Ph.D.](#)

Faculty of Nursing, University of Jember

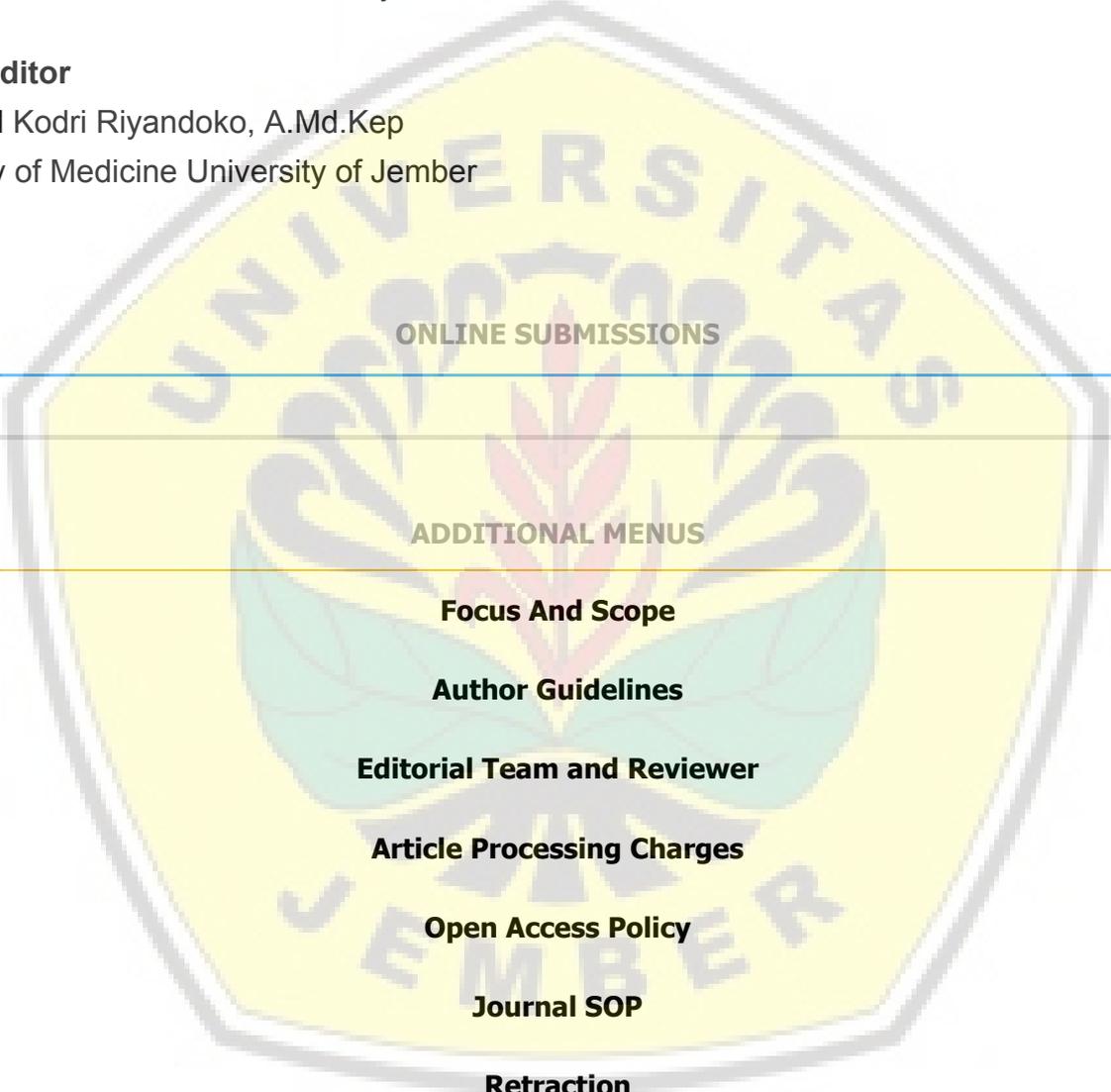
[Yunus Ariyanto, SKM., M.Kes.](#)

Faculty of Public Health, University of Jember

Web Editor

Ahmad Kodri Riyandoko, A.Md.Kep

Faculty of Medicine University of Jember



ONLINE SUBMISSIONS

ADDITIONAL MENUS

Focus And Scope

Author Guidelines

Editorial Team and Reviewer

Article Processing Charges

Open Access Policy

Journal SOP

Retraction

Archive

Journal Contact

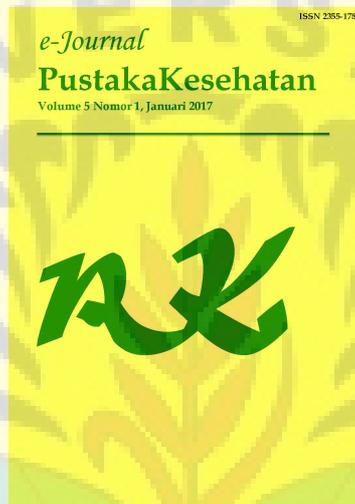
Copyright Notice

Publication Ethics

Peer-review Process

Indexing and Abstracting

HOME / ARCHIVES / Vol 5 No 1 (2017)



PUBLISHED: 2017-02-07

ARTICLES

Pengaruh Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) terhadap Ekspresi Tumor Necrosis Factor (TNF- α) Kartilago yang Diinduksi Complete Freund's Adjuvant (Effect of Lemuru (*Sardinella longiceps*) Fish Oil on Tumor Necrosis Factor (TNF- α) Expression of Cartilage that Induced by Complete Freund's Adjuvant)

Kiki Andari, Rena Normasari, Muhammad Hasan

1-5

 PDF

Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) terhadap Kerusakan Histologis Sel Hati Tikus Wistar yang Diinduksi DMBA (Hepatoprotective

Effect of Ethanolic Extract of Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) on the Histologically Damage of Wistar Rats Liver Cell Induced by DMBA)

Muhtar Ady Kusuma, Elly Nurus Sakinah, Rosita Dewi

6-11

 PDF

Efektivitas Chlorhexidine sebagai Inhibitor MMP-2 dan MMP-9 dalam Proses Dermonekrosis Akibat Racun Kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) (The Effectiveness of Chlorhexidine as MMP-2 and MMP-9 inhibitor in Dermonecrotic Process due to Rove Beetles Toxin (*Paederus* sp.))

Putri Erlinda Kusumaningrum, Al Munawir

12-19

 PDF

Efek Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica* L.) Arumanis terhadap Lama Perdarahan Mencit Putih Jantan (The Effect of Arumanis Mango (*Mangifera indica* L.) Peel Extract on the Bleeding Time of White Male Mice)

Komang Dewi Fridayanti, Cicik Komariah, Jauhar Firdaus

20-24

 PDF

Perbedaan Tingkat Kecenderungan Depresi pada Akseptor Berbagai Jenis Kontrasepsi Hormonal di Puskesmas Sumbersari Kabupaten Jember (The Difference of Depression Tendency Level on User of Several Hormonal Contraception Types in Sumbersari Primary Health Care, Jember)

Ghuiranda S Ramadhan, Alif Mardijana, Hairuddin Hairuddin

25-29

 PDF

Prevalensi, Karakteristik dan Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Penyakit Skabies di Pesantren Nurul Qarnain Kabupaten Jember (The Prevalence, Characteristic and Factors of Scabies in Pesantren Nurul Qarnain Jember)

Ika Rahmawati Sutejo; Viddy Agustian Rosyidi; Alief Ilman Zaelany

30-34

 PDF

Hubungan Efek Samping Suplemen Zat Besi (Fe) dengan Kepatuhan Ibu Hamil di Puskesmas Sumbersari Kabupaten Jember (The Association between Side Effects of Iron

Supplementation and Medication Adherence among Pregnant Women in Sumber Sari Health Center Jember Regency, East Java)

Irvina Anggita Baharini, Antonius Nugraha Widhi Pratama, Fransiska Maria Christianty

35-39

 PDF

Pengembangan Sensor Kloramfenikol Berbasis Imobilisasi Bovine Serum Albumin (BSA) pada Selulosa Asetat dengan Metode Spektrofluorometri (The Development of Chloramphenicol Sensor Based on Bovine Serum Albumin (BSA) Immobilization on Cellulose Acetate using Spectrofluorometry Method)

Dhany Alghifari, Bambang Kuswandi, Dwi Koko Pratoko

40-45

 PDF

Pengujian Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung (*Mangifera indica* L. var. gadung) dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) (Antioxidant Activity Assay of Methanolic Extract of Gadung Mango Leaves (*Mangifera indica* L. var. gadung) and Ethanolic Extract of Pandan Leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Combination)

Dewi Kusumaningrum Pamungkas, Yuni Retnaningtyas, Lestyo Wulandari

46-49

 PDF

Pengembangan Chip Kertas untuk Deteksi Chronic Kidney Disease secara Dini (Development of Paper Based Chip for The Early Detection of Chronic Kidney Disease)

Dwi Citra Nur Utami, Bambang Kuswandi, Lestyo Wulandari

50-56

 PDF

Optimasi Konsentrasi Hidroksipropil Selulosa dan Polivinilpirolidon dalam Sediaan Buccal Film Simvastatin (Optimization Of Hydroxypropyl Cellulose and Polyvnylpyrrolidone Concentration in Simvastatin Buccal Film)

Nurul Qomariyah, Lidya Ameliana, Lusya Oktora Ruma Kumala Sari

57-64

 PDF

Uji Toksisitas Subkronik Jamu Asam Urat pada Hati Mencit Galur Balb-C (Subchronic Toxicity Study of Jamu Asam Urat in Liver of Balb-C Mice)

M Nuril Huda, Diana Holiday, Fifteen Aprilia Fajrin



Pengaruh Permainan Ular Tangga terhadap Pengetahuan dan Sikap dalam Menghadapi Menarche pada Siswi SDN Pringgowirawan 01 Sumberbaru Kabupaten Jember (The effect of snack and ladder game to the knowlodge and attitude to confront menarche for the students of elementary school 01 Sumberbaru, Jember)

Dini Kurniawati, Devis Yulia Rohmana, Peni Perdani Juliningrum

71-76



Pengaruh Terapi Murottal Al-Qur'an terhadap Tekanan Darah Pasien Pre Operasi Katarak dengan Hipertensi di Ruang Tulip Rumah Sakit Daerah dr. Soebandi Jember (The Effect of The Murottal Al-Qur'an Therapy on Blood Pressure of Pre Operative Cataract Patients with Hypertension in Tulip Inpatient Ward of dr. Soebandi Hospital, Jember)

Siswoyo Siswoyo, Sulis Setyowati, Muhamad Zulfatul A'la

77-83



Pengaruh Therapeutic Exercise Walking terhadap Risiko Ulkus Kaki Diabetik pada Klien Diabetes Melitus Tipe 2 di Kelurahan Gebang Kecamatan Patrang Kabupaten Jember (The Effect of Therapeutic Exercise Walking on the Risk of Diabetic Foot Ulcer in Client with Type 2 Diabetes Mellitus at Gebang Village of Patrang District Jember Regency)

Siti Zumrotul Mina, Nur Widayati, Mulia Hakam

84-90



Pengaruh Pelatihan Manajemen Diri terhadap Perilaku Merokok pada Remaja Di SMK Negeri 2 Jember Kecamatan Summersari Kabupaten Jember (The Effect of Self-Management Training on Teenager's Smoking Behavior at SMK Negeri 2 Jember of Summersari Sub-District Jember Regency)

Helda Puspitasari, Emi Wuri Wuryaningsih, Ahmad Rifai

91-98



Hubungan Parental Monitoring dengan Perilaku Seksual Berisiko pada Remaja di Desa Puger Kulon Kecamatan Puger Kabupaten Jember (Correlation of Parental Monitoring with Risky Sexual Behavior in Adolescents in the Puger Kulon Village Districts Puger of Jember Regency)

Sena Wahyu Purwanza, Hanny Rasni, Peni Perdani Juliningrum

99-107

 PDF

Efikasi Diri, Kepatuhan, dan Kualitas Hidup Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 (Self Efficacy, Adherence, and Quality of Life of Patients with Type 2 Diabetes)

Handono Fatkhur Rahman, Yulia Yulia, Lestari Sukmarini

108-113

 PDF

Efektivitas Penyuluhan Metode Aplikasi Inovatif GIGI SEHAT dan Pertunjukan Panggung Boneka terhadap Pengetahuan Kesehatan Gigi dan Mulut Siswa Kelas IV & V SDN Kebonsari 02 Jember (The Effectiveness Counseling of Innovative Application GIGI SEHAT Method and Puppet Show to Dental Health Knowledge for IV & V Grade Students of SDN Kebonsari 02 Jember)

Qatrunnada Fath, Hestieyonini Hadnyanawat, Kiswaluyo .

114-119

 PDF

Insidensi dan Distribusi Penderita Angular Cheilitis pada Bulan Oktober-Desember Tahun 2015 di RSGM Universitas Jember (Incidence and Distribution of Angular Cheilitis on October-December 2015 at Dental Hospital of Jember University)

Herlin Sriwahyuni, Sri Hernawati, Ayu Mashartini

120-127

 PDF

Prevalensi Indikasi Perawatan Tumpatan pada Pasien yang Berkunjung ke RSGM Universitas Jember Tahun 2015 (The Indication Prevalence of Restoration Treatments in Patients Who Attended Dental Hospital University of Jember in 2015)

Ilonavia Satiti, Dwi Warna Aju Fatmawati, Sri Lestari

128-132

 PDF

Hubungan Kecepatan Waktu Pelayanan terhadap Kepuasan Pasien di Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember (The Relation of Speed Time Service to Patient Satisfaction in Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember)

Alifah Nur Jannah, Kiswaluyo ., Ristya Widi E.Y

133-137



PDF

Perbedaan Tingkat Kecemasan Pasien Berdasarkan Usia, Jenis Kelamin, Tingkat Pendidikan dan Pengalaman Pencabutan Gigi Di RSGM FKG Universitas Jember (The Differences Patients Anxiety Level Based on Age, Sex, Education level and Tooth Extraction Experience at Dental Hospital, Faculty of Dentistry, University of Jember)

Syamsul Bachri, Zainul Cholid, Abdul Rochim

138-144



PDF

Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) terhadap Pertumbuhan Bakteri Saluran Akar Gigi (Inhibition Test of Purple Leaf (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) Methanol Extract toward Root Canal Bacteria's Growth)

Resti Ayu Indriana, Pudji Astuti, Atik Kurniawati

145-150



PDF

Analisis Efektivitas Biaya Penggunaan Antibiotik terhadap Pasien Sepsis di RSD dr. Soebandi Tahun Analisis Efektivitas Biaya Penggunaan 2014-2015 (Cost Effectiveness Analysis of Antibiotic Used for Sepsis Patients in dr. Soebandi Hospital During 2014-2015)

Putri Kartika Ningsih, Prihwanto Budi Subagijo

151-156



PDF

Optimasi Komposisi Polietilen Glikol dan Lesitin sebagai Kombinasi Surfaktan pada Sediaan Nanoemulsi Kafein (Optimization of Polyethylene Glycol and Lecithin Composition as Surfactant Combination in the Caffeine Nanoemulsion)

Dessy Dwi Risky Ayuningtias, Dwi Nurahmanto, Viddy Agustian Rosyidi

157-163



PDF

Pengaruh Dukungan Keluarga terhadap Tingkat Depresi Pasien Chronic Kidney Disease Stadium 5D yang Menjalani Hemodialisis di RSD dr. Soebandi Jember (The Influence of Family Support on Depression Level of Chronic Kidney Disease Stage 5D Patient's during H

Devita Luthfia Fitrianasari, Justina Evy Tyaswati, Ida Srisurani Wiji Astuti

164-168



PDF

Prevalensi dan Distribusi Penderita Stomatitis Aftosa Rekuren (SAR) di Klinik Penyakit Mulut RSGM FKG Universitas Jember pada Tahun 2014 (Prevalence and Distribution of Patients Recurrent Aphthous Stomatitis (RAS) in Oral Medicine Departement of Dental

Annisa Sulistiani, Sri Hernawati, Ayu Mashartini P

169-176

 PDF

Distribusi Pencabutan Gigi Berdasarkan Karakteristik Sosiodemografi pada Pasien RSGM Universitas Jember Periode Januari-Desember 2014 (Distribution of Tooth Extraction Based on Sociodemographic Characteristic of Dental Hospital of University of Jember Pat

Zulfa Fithri, Abdul Rochim, Zainul Cholid

177-184

 PDF

Hubungan Diabetes Distress dengan Perilaku Perawatan Diri pada Penyandang Diabetes Melitus Tipe 2 di Wilayah Kerja Puskesmas Rambipuji Kabupaten Jember (Correlation between Diabetes Distress and Selfcare Behaviour in People with Type 2 Diabetes Mellitus i

Ary Januar Pranata Putra, Nur Widayati, Jon Hafan Sutawardana

185 - 192

 PDF

ONLINE SUBMISSIONS

ADDITIONAL MENUS

Focus And Scope

Author Guidelines

Editorial Team and Reviewer

Article Processing Charges

Open Access Policy

Journal SOP

Retraction

Efektivitas *Chlorhexidine* sebagai Inhibitor MMP-2 dan MMP-9 dalam Proses Dermonekrosis Akibat Racun Kumbang Tomcat (*Paederus* sp.)

(The Effectiveness of *Chlorhexidine* as MMP-2 and MMP-9 inhibitor in Dermonecrotic Process due to Rove Beetles Toxin (*Paederus* sp.))

Putri Erlinda Kusumaningrum, Al Munawir, Bagus Hermnasyah
Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail: erlindakusuma@gmail.com

Abstract

Paederus dermatitis is dermonecrotic condition caused by Rove beetles (*Paederus* sp.). Paederin toxin come from endosymbiotic between rove beetles and *Pseudomonas aeruginosa* and can produces MMP-2 and MMP-9. Chlorhexidine is expected to be alternative therapy and prevention of dermatitis paederus due to it's MMP inhibitor and bacteriostatic effect. The study aimed to investigated the effectivity of chlorhexidine as MMP-2 and MMP-9 inhibitor in dermonecrotic process due to rove beetles toxin. Research groups consisted of negative control (paederin toxin), treatment 1 (paederin toxin + chlorhexidine 0,012%), treatment 2 (paederin toxin + chlorhexidine 0,06%), treatment 3 (paederin toxin + chlorhexidine 0,3%), and normal control (aquadest). As much as 9,3 µg paederin toxin and chlorhexidine are injected to the well of 8% acrylamide gel containing gelatin. Measuring of band density using ImageJ showed a decreasing of MMP-2 and MMP-9 band density. Negative control group was considered to have 1 of relative optical density. The result showed that chlorhexidine 0,06% can inhibits 21,6% MMP-2 activities and at 0,3% can inhibits 16,4% MMP-9 activities. One way ANOVA test show different significantly between negative control and treatment group ($p < 0,05$). In conclusion chlorhexidine has potency as MMP-2 and MMP-9 inhibitor in dermonecrotic process due to Rove Beetles toxin.

Keywords: Rove beetles(*Paederus* sp.), dermonrcrotic, MMP-2, MMP-9, chlorhexidine

Abstrak

Dermatitis paederus adalah dermonekrosis yang terjadi akibat racun kumbang tomcat (*Paederus* sp.). Racun paederin berasal dari endosimbiosis antara kumbang tomcat dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan menghasilkan MMP-2 dan MMP-9. *Chlorhexidine* diharapkan menjadi alternatif pengobatan dan pencegahan dermatitis paederus yakni sebagai inhibitor MMP dan bakteristatik. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji efektivitas *chlorhexidine* sebagai MMP-2 dan MMP-9 inhibitor dan peranannya dalam mengurangi dermonekrosis akibat racun *Paederus* sp. Kelompok penelitian terdiri atas kontrol negatif (racun paederin), perlakuan 1 (racun paederin + *chlorhexidine* 0,012%), perlakuan 2 (racun paederin + *chlorhexidine* 0,06%), perlakuan 3 (racun paederin + *chlorhexidine* 0,3%), dan kontrol normal (aquadest). Racun paederin sebesar 9,3 µg ditambah dengan *chlorhexidine* dimasukkan dalam sumuran gel *acrylamide* 8% yang mengandung gelatin. Pengukuran densitas *band* dengan *software* ImageJ menunjukkan penurunan densitas *band* MMP-2 dan MMP-9. Kelompok kontrol negatif dianggap memiliki *relative optical density* 1. Pada konsentrasi *chlorhexidine* 0,06% mampu menghambat aktivitas MMP-2 sebesar 21,6% dan pada konsentrasi 0,3% menghambat aktivitas MMP sebesar 16,4%. Analisis dengan one way ANOVA menunjukkan ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa *chlorhexidine* berperan sebagai MMP-2 dan MMP-9 inhibitor dan mengurangi dermonekrosis akibat racun *Paederus* sp.

Kata kunci: Tomcat (*Paederus* sp.), dermonekrosis, MMP-2, MMP-9, *chlorhexidine*

Pendahuluan

Dermatitis paederus atau dermatitis linearis adalah iritasi kulit akut yang disebabkan adanya kontak kulit dengan racun paederin. Racun paederin dikeluarkan dari tubuh kumbang tomcat (*Paederus* sp.) bukan melalui sengatan ataupun gigitan, melainkan karena tubuh *Paederus* sp. tergecet atau tidak sengaja ditekan [1]. Paederin adalah amida dengan dua cincin tetrahidropiran yang menyumbang sekitar 0,025% dari berat *Paederus* sp.. Struktur kimia paederin didominasi oleh unsur asam yang sangat banyak dengan rumus kimia $C_{24}H_{45}O_9N$ dan diketahui bahwa racun paederin lebih poten dibandingkan racun *black widow spider* [2,3] dan menurut Nasir et al. (2015) racun paederin juga lebih poten jika dibandingkan dengan racun Cobra [4]. Dominasi unsur asam pada racun paederin memiliki sifat korosif sehingga mampu mengiritasi kulit [1].

Gejala klinis dermatitis paederus bisa muncul dalam 24 jam setelah kontak dengan paederin [5]. Gejala yang paling banyak ditemukan adalah kemerahan, bengkak, dan gatal. Akan tetapi pada sebagian kasus juga dijumpai rasa nyeri yang hebat, terbakar atau rasa yang sangat panas atau bahkan tanpa keluhan sama sekali. Tidak hanya itu saja, terdapat pula keluhan pada mata, pembesaran limfe, atau gejala konstitusional lainnya [6]. Bentuk lesi yang paling banyak dijumpai adalah bentuk linear, vesikel, bulosa, atau pustul dengan dasar eritematosa [7]. Bentuk lesi lainnya berupa kissing lesion [6]. Lesi yang muncul tersebut harus dibedakan dengan lesi yang muncul akibat herpes simplex, herpes zoster, luka bakar, alergi akut atau dermatitis kontak iritan lainnya. Karakteristik berupa lesi linear, predileksi pada area tubuh yang terbuka, *kissing lesions*, dan juga data epidemiologi bisa membantu untuk menegakkan diagnosis dermatitis paederus [1].

Paederus sp. pertama kali menyerang manusia tahun 1901 [6] dan kemudian tahun 1915 di Afrika [8]. Sejak itu, serangan *Paederus* sp. terjadi di berbagai belahan dunia termasuk Indonesia. Tercatat sebanyak 260 warga di Tulungagung pada tahun 2004, 50 warga Gresik pada tahun 2008, 20 warga Surabaya pada tahun 2008-2009, dan 160 warga Surabaya pada tahun 2012 yang mengalami gejala paederus dermatitis [9]. Selain data tersebut, pada tahun 2013 dilaporkan 500 warga di Pacitan juga mengalami serangan *Paederus* sp. [10]. Sebagian laporan lainnya tidak

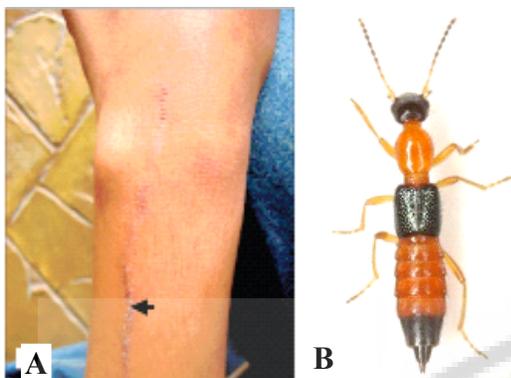
menyebutkan secara konkret jumlah penderita, seperti serangan *Paederus* sp. di Cilacap pada tahun 2014 [10]. Sehingga dapat disimpulkan jika jumlah kasus serangan *Paederus* sp. lebih banyak jika dibandingkan data kasus yang ada.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Piel, gen pada biosintesis racun paederin tidak berasal dari genom kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) melainkan lebih mendekati genom bakteri *Pseudomonas aeruginosa* [11]. Singh and Ali juga menyebutkan bahwa paederin tersebut dihasilkan dengan proses endosimbiosis antara *Paederus* sp. dengan *Pseudomonas aeruginosa* [1]. Penelitian lain menyebutkan bahwa penggunaan terapi tambahan berupa antibiotik memerlukan waktu penyembuhan yang lebih singkat dari pada hanya menggunakan kortikosteroid dan antihistamin [7]. Hal ini memperkuat bukti adanya simbiosis antara bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Paederus* sp. untuk terjadinya dermatitis paederus.

Menurut Asoodeh dan Musaabadi, *Pseudomonas aeruginosa* mampu mensekresikan enzim matriks metaloproteinase ekstraseluler [12]. Enzim matriks metaloproteinase (MMP) merupakan enzim proteolitik yang memiliki kemampuan mendegradasi matriks ekstraseluler. MMP-2 dan MMP-9 merupakan MMP yang mendegradasi komponen matriks ekstraseluler kulit seperti kolagen, gelatin dan elastin. Oleh sebab itu, enzim MMP-2 dan MMP-9 diduga memiliki peran dalam dermonekrosis akibat racun paederin [13,14].

Terapi dermatitis paederus oleh dokter menggunakan kortikosteroid topikal [15]. Padahal, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fakoorziba et al., pengobatan dermatitis paederus menggunakan kortikosteroid tidak efektif karena menyebabkan waktu penyembuhan menjadi lebih lama jika dibandingkan dengan penggunaan anti pruritus dan *cleansing agent* [16].

Chlorehexidine selama ini digunakan sebagai antiseptik. Penggunaan lain dari chlorhexidine adalah sebagai obat kumur yang berfungsi sebagai anti gingivitis dan juga mengurangi plak pada gigi [17]. *Chlorhexidine* bermuatan positif dan bereaksi dengan permukaan sel mikroba yang bermuatan negatif, sehingga menghancurkan integritas membran sel. Selanjutnya, *chlorhexidine* menembus ke dalam sel dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler sehingga menyebabkan kematian sel [18].



Gambar 1. Anak panah menunjukkan kasus dermatitis paederus berupa lesi linear pada lengan kiri (A) [2]. Ciri fisik *Paederus* sp. (B) [15]

Selain memiliki sifat antibakteri, berdasarkan Gendron, *chlorhexidine* mampu menghambat aktivitas dari MMP-2, MMP-8, dan MMP-9 [19]. *Chlorhexidine* mampu berperan sebagai MMPs inhibitor dengan cara berikatan dengan *calcium* (Ca^{2+}) dan *zinc* (Zn^{2+}) yang sangat dibutuhkan dalam proses proteolisis [20,21]. Berdasarkan hal tersebut, terapi menggunakan *chlorhexidine* diharapkan penggunaan *chlorhexidine* dapat memberikan dua efek berupa bakteriostatik dan MMP inhibitor. Tujuan penelitian ini adalah melakukan uji efektivitas terhadap *chlorhexidine* sebagai inhibitor MMP-2 dan MMP-9 yang diduga berperan dalam proses dermonekrosis akibat racun kumbang tomcat (*Paederus* sp.). Hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan bahan pertimbangan dokter dalam melakukan terapi dan pencegahan pada pasien dermatitis paederus.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) secara *in vitro* dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian dilakukan pada bulan September sampai November 2015 di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Kelompok penelitian terdiri atas kontrol negatif (racun paederin 9,3 μg), perlakuan 1 (racun paederin 9,3 μg + *chlorhexidine* 0,012%), perlakuan 2 (racun paederin 9,3 μg + *chlorhexidine* 0,06%), perlakuan 3 (racun paederin 9,3 μg + *chlorhexidine* 0,3%), dan kontrol normal (aquadest). Jumlah pengulangan pada penelitian ini adalah sebanyak lima kali pengulangan.

Pencarian kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) dilakukan dengan melakukan penangkapan secara manual di beberapa lokasi persawahan di daerah Antirogo Kabupaten Jember. Penangkapan menggunakan *general precaution* berupa sarung tangan. Identifikasi kumbang Tomcat (*Paederus* sp.) dilakukan berdasarkan ciri fisik dari kumbang yang dinyatakan oleh Heo et al. [2]. Racun paederin diekstraksi dengan berdasarkan metode yang dilakukan oleh You et al., dilakukan modifikasi dengan cara tubuh *Paederus* sp. dihancurkan menggunakan mortar [5]. Lima ekor *Paederus* sp. dilarutkan dalam 1 mL aquadest. Hasil suspensi tersebut kemudian disentrifuge dengan kecepatan 5000 rpm selama 300 detik. Supernatan yang berhasil dipisahkan dengan proses sentrifuge kemudian dilakukan pengukuran kadar protein menggunakan uji protein Bradford.

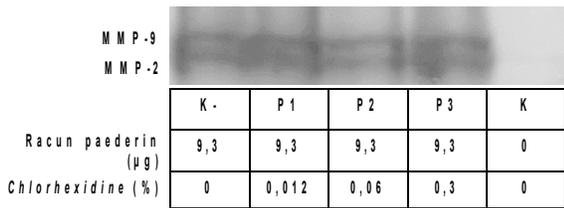
Chlorhexidine yang digunakan sebagai bahan adalah *chlorhexidine gluconate* 4%. Pada penelitian ini, peneliti menggunakan 9,3 μg racun *Paederus* sp. yang diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C yang ditambahkan dengan *chlorhexidine* sesuai dengan desain penelitian. Sampel tersebut ditambah dengan sampel buffer dengan perbandingan 1:1 lalu kemudian di vortex. Setelah diinkubasi, bahan sampel kemudian dimasukkan ke dalam sumuran gel acrylamide 8%. Elektroforesis dilakukan pada voltase 80 volt dengan menggunakan *running buffer*. Selanjutnya dilakukan renturasi gel menggunakan Triton X-100 selama 45 menit pada suhu ruangan. Kemudian gel diinkubasi selama 20 jam menggunakan *development buffer*. Kedua proses tersebut dilakukan dalam *shaker*. Kemudian pewarnaan gel menggunakan *Commasie Brilliant Blue* (CBB) selama 40 menit sehingga aktivitas MMP terlihat sebagai *band* berwarna jernih sedangkan gelatin yang tidak terdegradasi berwarna biru.

Band yang muncul dianalisis menggunakan densitometri *software* ImageJ. Densitas *band* menunjukkan substrat yang mampu dicerna oleh MMP. Nilai densitas *band* kemudian dikonversi sebagai *relative optical density* dengan range nilai 0-1 dan kemudian dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$.

Hasil Penelitian

Berikut data yang diperoleh selama penelitian uji efektivitas *chlorhexidine* sebagai inhibitor MMP-2 dan MMP-9 dalam proses

dermonekrosis akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.)

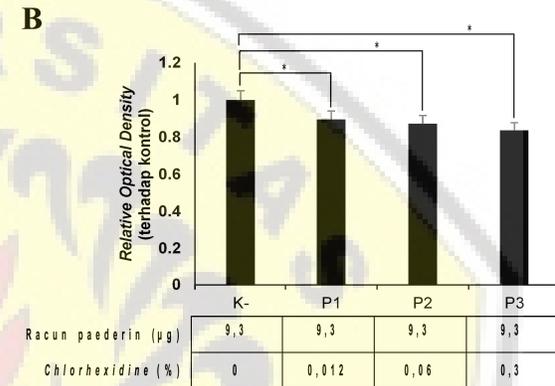
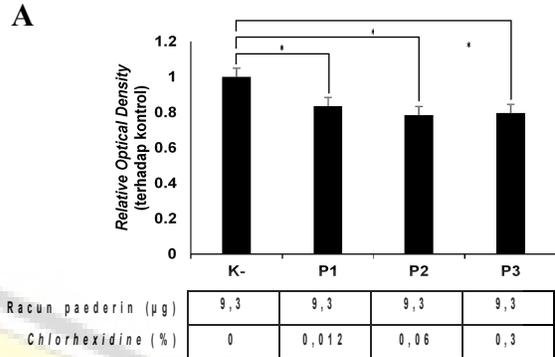


Gambar 2. Hasil zimografi menunjukkan ketebalan band. Keterangan: K- (racun paederin), P1 (racun paederin + chlorhexidine 0,012%), P2 (racun paederin + chlorhexidine 0,06%), P3 (racun paederin + chlorhexidine 0,3%), dan K (aquadest).

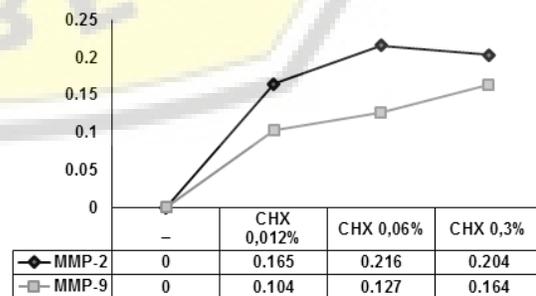
Dua band yang muncul menunjukkan bahwa racun kumbang tomcat (*Paederus* sp.) mengandung MMP-2 dan MMP-9 yang mampu mendegradasi gelatin secara *in vitro*. Hasil gelatin zimografi juga menunjukkan penurunan densitas band pada kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa chlorhexidine memiliki kemampuan sebagai inhibitor MMP-2 dan MMP-9.

Band yang muncul kemudian diukur menggunakan software ImageJ. Software ini akan mentransformasikan ketebalan band menjadi peak area. Hasil peak area kemudian dikonversikan menjadi relative optical density sebagai nilai yang mewakili ketebalan band dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Data semi kuantitatif ini memiliki range dari 1 hingga 0, dengan 1 mewakili peak area kelompok kontrol negatif. Konversi yang dilakukan bertujuan untuk memperoleh data yang homogen.

Berdasarkan pengukuran yang telah dilakukan, diketahui bahwa terdapat penurunan rata-rata ketebalan band pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Penurunan rata-rata ketebalan band menunjukkan bahwa chlorhexidine memiliki kemampuan sebagai inhibitor MMP-2 dan MMP-9 pada proses dermonekrosis akibat racun paederin. Kemampuan chlorhexidine dalam menghambat aktivitas MMP-2 lebih tinggi jika dibandingkan dengan kemampuan menghambat aktivitas MMP-9.



Gambar 3. Rata-rata aktivitas MMP-2 (n=5). Chlorhexidine 0,012% (p=0,003), 0,06% (p=0,000), 0,3% (p=0,001) mampu menurunkan aktivitas MMP-2 (A) Rata-rata aktivitas MMP-9 (n=5). Chlorhexidine 0,012% (p=0,029), 0,06% (p=0,010), 0,3% (p=0,002) mampu menurunkan aktivitas MMP-9 (B) akibat racun kumbang tomcat (*Paederus* sp.) *perbedaan signifikan antara chlorhexidine dan kontrol negatif (p<0,05)



Gambar 4. Rata-rata kemampuan hambat chlorhexidine terhadap aktivitas MMP-2 dan MMP-9. Hambatan

maksimal aktivitas MMP-2 ditunjukkan oleh *chlorhexidine* 0,06% dan aktivitas MMP-9 oleh *chlorhexidine* 0,3%.

Pembahasan

Dermatitis paederus atau dermatitis linearis adalah dermonekrosis yang terjadi akibat adanya kontak dengan kumbang Tomcat (*Paederus* sp.). Racun paederin dari *Paederus* sp. menimbulkan gejala berupa rasa gatal, merah, dan melepuh seperti terbakar pada kulit. Dermonekrosis pada kulit menunjukkan kerusakan pada kolagen dan gelatin yang menjadi komponen penyusun kulit. Proses dermonekrosis yang terjadi di kulit, pada penelitian ini dianalogikan dengan proses degradasi gelatin pada proses gelatin zimografi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif memiliki *band* yang paling tebal dan cerah yang ditunjukkan dengan hasil *peak area* yang paling besar. Degradasi gelatin pada proses gelatin zimografi ditunjukkan dengan adanya *band* yang muncul. *Band* muncul akibat aktivitas MMP-2 dan MMP-9 yang memiliki spesifitas pada gelatin. MMP-2 memiliki berat molekul sebesar 72 kDa dan MMP-9 memiliki berat molekul 92 kDa [22]. Perbedaan berat molekul menyebabkan *band* akibat degradasi MMP-9 berada lebih atas jika dibandingkan *band* hasil degradasi MMP-2 karena semakin ringan akan semakin mudah bergerak ke bawah. Oleh sebab itu, dapat disimpulkan bahwa racun paederin memiliki kandungan MMP-2 dan MMP-9. Walaupun pada gelatin zimografi bisa muncul aktivitas dari MMP-1, MMP-8, dan MMP-13 akan tetapi aktivitasnya akan sangat minimal. MMP-8 juga sangat sulit dideteksi dengan metode gelatin zimografi dan memerlukan teknik pemeriksaan jenis lain. Berat molekul bentuk aktif dan laten dari MMP-1 dan MMP-13 adalah antara 40-60 kDa [23].

Selain terbukti bahwa racun paederin mengandung MMP-2 dan MMP-9, dari penelitian ini juga diperoleh hasil bahwa pada konsentrasi 0,012%; 0,06% dan 0,3% *chlorhexidine* mampu menghambat aktivitas dari racun paederin dalam mendegradasi gelatin. Hasil analisis statistik juga menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan akan tetapi tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Rata-rata daya hambat tertinggi pada aktivitas MMP-2 ditunjukkan oleh *chlorhexidine* 0,06%

sebesar 21,6% dan rata-rata daya hambat tertinggi aktivitas MMP-9 ditunjukkan oleh *chlorhexidine* 0,3% sebesar 16,4%. Walaupun rata-rata daya hambat tertinggi pada aktivitas MMP-2 ditunjukkan oleh *chlorhexidine* 0,06%, akan tetapi dari lima pengulangan data, tiga data menunjukkan bahwa daya hambat tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi *chlorhexidine* 0,06% sehingga terdapat kemungkinan bias data yang terjadi.

Tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan bisa disebabkan perbedaan konsentrasi *chlorhexidine* yang tidak signifikan. Selain itu, terjadinya bias pada data daya hambat MMP-2 diduga karena sediaan *chlorhexidine* yang digunakan sehingga perlu dipertimbangkan penggunaan *chlorhexidine* bentuk sediaan lainnya.

Kandungan MMP-2 dan MMP-9 pada racun paederin merupakan hasil endosimbiosis antara *Paederus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* [24]. Secara *in vivo*, racun paederin menimbulkan dermatitis paederus bukan hanya karena aktivitas MMP-2 dan MMP-9 yang mendegradasi gelatin, akan tetapi juga disebabkan oleh adanya sifat asam dari racun dengan rumus kimia $C_{25}H_{45}O_9N$ yang menyebabkan korosi pada kulit sehingga reaksi inflamasi yang muncul lebih parah [1].

Sebelumnya, laporan terkait dermonekrosis akibat racun binatang telah ada. Salah satu yang telah diteliti adalah proses dermonekrosis akibat racun ubur-ubur *N. Nomurai*. Pemeriksaan histopatologi pada pengujian *in vivo* diperoleh bahwa terdapat kerusakan kolagen, degenerasi jaringan, edema, perdarahan, dan infiltrasi neutrofil pada dermis. Pada penelitian tersebut juga menunjukkan adanya aktivitas MMP-2 dan MMP-9 yang diduga berperan dalam proses dermonekrosis yang terjadi [25].

Chlorehexidine selama ini digunakan sebagai antiseptik. Penggunaan lain dari *chlorhexidine* adalah sebagai obat kumur yang berfungsi sebagai anti gingivitis dan juga mengurangi plak pada gigi [17]. Sifat bakteriostatik dan bakteriosid *chlorhexidine* ditentukan berdasarkan dosis yang digunakan. Pada dosis yang lebih besar dari 100 µg/ml *chlorhexidine* memiliki sifat bakteriosid, sedangkan pada dosis 1-100 µg/ml memiliki sifat sebagai bakteriostatik [26]. Selain memiliki sifat antibakteri, berdasarkan Gendron (1999) *Chlorhexidine* mampu menghambat aktivitas dari MMP-2, MMP-8, dan MMP-9. *Chlorehexidine* mampu berperan sebagai

inhibitor MMP dengan cara berikatan dengan *calcium* (Ca²⁺) dan *zinc* (Zn²⁺) yang sangat dibutuhkan dalam proses proteolisis [20,21].

Selama ini belum ada penelitian terkait penggunaan *chlorhexidine* sebagai inhibitor MMP-2 dan MMP-9 dalam proses dermonekrosis akibat racun kumbang Tomcat (*Paederus* sp.). Namun, pembahasan mengenai kemampuan *chlorhexidine* sebagai inhibitor MMP telah banyak dipelajari. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Gendron *et al.*, (1999) secara *in vitro* dengan metode zimografi diketahui bahwa pada konsentrasi 0,03% *chlorhexidine* mampu menghambat aktivitas MMP-2 dan MMP-9 secara menyeluruh pada kasus periodontal [19]. Konsentrasi minimal yang mampu menghambat aktivitas MMP-9 adalah 0,002% sedangkan MMP-2 lebih sensitif terhadap *chlorhexidine* dan terjadi penghambatan pada konsentrasi 0,0001%.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Hashimoto *et al.*, (2005) menyebutkan bahwa *chlorhexidine* dengan konsentrasi 0,2% dan 2% mampu mengurangi aktivitas MMP pada dentin dengan penilaian aktivitas MMP menggunakan *fluorecent* [27]. Hal serupa juga disampaikan oleh Montagner *et al.*, (2014) bahwa pada konsentrasi 0,2% *chlorhexidine* mampu berperan sebagai inhibitor MMP [28]. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penelitian ini sinergis dengan penelitian lainnya bahwa *chlorhexidine* memiliki kemampuan sebagai inhibitor MMP-2 dan MMP-9.

Penggunaan *chlorhexidine* sebagai inhibitor MMP-2 dan MMP-9 dalam proses dermonekrosis akibat racun kumbang tomcat (*Paederus* sp.) diharapkan menjadi modalitas terapi dan pencegahan dermatitis paederus.

Simpulan dan Saran

MMP-2 dan MMP-9 terbukti berperan dalam proses dermonekrosis akibat racun kumbang tomcat (*Paederus* sp.). Penggunaan *chlorhexidine* dapat mengurangi proses dermonekrosis akibat racun *Paederus* sp. Daya hambat aktivitas MMP-2 tertinggi ditunjukkan oleh *chlorhexidine* 0,06% dan daya hambat tertinggi aktivitas MMP-9 ditunjukkan oleh *chlorhexidine* 0,3%

Perlu penelitian untuk mengetahui kandungan metalloproteinase tipe lain pada racun paederin dan proses dermonekrosis akibat racun paederin secara *in vivo*. Selain itu bisa diteliti kemampuan MMP inhibitor

chlorhexidine pada konsentrasi yang lebih tinggi dan dipertimbangkan penggunaan *chlorhexidine proanalytic* untuk meminimalisir bias dan penggumpalan saat pembuatan sediaan serta pengembangan cara ekstraksi lain untuk memperoleh kandungan racun yang lebih tinggi.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Dirjen Pendidikan Tinggi (DIKTI) yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) tahun 2014.

Daftar Pustaka

- [1] Singh G, Ali YA. Paederus Dermatitis. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2007. 73: 13-15.
- [2] Heo CC, Latif B, Hafiz WM, Zhou HZ. Case Series: Dermatitis caused by Paederus fuscipes Curtis, 1840 (Coleoptera: Staphilinida e) In Student Hostels in Selangor, Malaysia. Southes Asian J Trop Med Public Helath. 2013. 44(2): 197-205.
- [3] Ebrahimzahed MA, Rafati MR, Damchi M, Golpur M, Fathiazad F. F Treatment of Paederus Dermatitis with Sambucus ebulus Lotion. Iranian Journal of Pharmacheutical Research. 2014. 13(3): 1065-1071
- [4] Nasir S, Akram W, Khan RR, Arshad M, Nasir I. Paederus beetles: the Agent of Human Dermatitis. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases. 2015. 21(5): 1-6.
- [5] You DO, Kang JD, Youn NH, Park SD. Bullous Contact Dermatitis Caused by Self-Applied Crushed Paederus fuscipes for the Treatment of Vitiligo. Cutis. 2003. 72: 385-388.
- [6] Taneja A, Nayak S, Sheni DS. Clinical and epidemiological study of Paederus dermatitis in Manipal, India. Journal of Pakistan Association of Dermatologist. 2013. 23(2): 1333-138.

- [7] Qadir SNR, Raza N, Rahman SB. Paederus Dermatitis In Sierra Leone. *Dermatology Online Journal*. 2006. 12(7): 9. (Coleoptera: Staphylinidae) On Guinea Pigs. *Trop Biomed*. 2011. 28(2): 18-24.
- [8] Mbonile L. Acute Haemorrhagic Conjunctivitis Epidemics and Outbreaks of Paederus spp. Keratoconjunctivitis ('Nairobi red eyes') and Dermatitis. *The South African Medical Journal*. 2011. 101(8).
- [9] Achmad F. Kompas [internet]. Surabaya: Kompas; 21 Maret 2012 [cited 15 September 2015]. Tercatat, 130 Laporan Serangan Tomcat. Available from: <http://regional.kompas.com/read/2012/03/21/14044489/Tercatat..130.Laporan.Serangan.Tomcat>
- [10] Seputar Indonesia Siang. "Serangan Tomcat Gemparkan Warga". *Rajawali citra Televisi Indonesia*. Jakarta, 30 Mei 2015.
- [11] Piel J. A polyketide Synthase-peptide Synthetase Gene Cluster from An Uncultured Bacterial Symbiont of Paederus Beetles. *Proc Nat Acad Sci USA*. 2002. 99(22): 14002-14007.
- [12] Asoodeh A, Musaabadi HM. Purification and Characterization of a Thermostable Neutrophilic Metalloprotease from Pseudomonas sp. DR89. *Iranian Journal of Biotechnology*. 2012. 10(2): 120-128.
- [13] Whittaker M, Ayscough A. Matrix Metalloproteinases and their Inhibitors – Current Status and Future Challenges. *Celltransmissions*. 2001. 17(1): 3-14.
- [14] Setiawan B, Irvati S, Suwarni A. Perbedaan Efektivitas berbagai Desinfektan Terhadap Mikroorganisme Inkubator Neonatal di ICU RS DR Sardjito Yogyakarta. *Jurnal Teknologi Kesehatan*. 2004. 10(1): 1-7.
- [15] Kemenkes RI. Panduan Pencegahan dan Pengendalian Kumbang Paederus sp.. Jakarta : Kemenkes RI; 2012.
- [16] Fakoorziba MR, Eqhbal F, Azizi K, Moemenbellah F. Treatment Outcome of Paederus Dermatitis Due to Rove Beetles
- [17] Carihlo MRO, Carvahlo RM, Goes MF, Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjahderhane L. Chlorhexidine Preveres Dentin bond in vitro. *J Dent*. 2007. 86 (1): 90-94
- [18] Pubchem. Chlorhexidine. US National Library of Medicine [internet]. [Cited from 15 September 2015]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/chlorhexidine#>
- [19] Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of Activities of Matrix Metalloproteinases 2, 8, and 9, by Chlorhexidine. *American Society for Microbiology*. 1999. 6 (3): 437-439.
- [20] Moon PC, Weaver J, Brooks CN. Review of Matrix Metalloproteinases Effect on the hybrid Dentin Bond Layer Stability and Chlorhexidine Clinical Use to Prevent Bond Failure. *The Open Dentistry Journal*. 2010. 4: 147-152.
- [21] Boushell LW, Swift EJ. Dentin Bonding: Matrix Metalloproteinases and Chlorhexidine. *JERD* [internet]. 2007. [cited from Agustus 2015] 86, 529-33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21977960>
- [22] Kupai K, Szucs G, Cseh S, Hajdu I, Csonka C, Csont, T, Ferdinandy P. Matrix Metalloproteinase Activity Assays : Importance Of Zymography. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2010. 61 (2) : 205-209.
- [23] Beurden PAMSV, Hoff, JWVD. Zymographic Techniques for the Analysis of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors. *BioTechniques*. 2005. 38(1): 73-83.
- [24] Piel J, Hofer I, Hui D. Evidence for a Symbiosis Island Involved in Horizontal Acquisition of Pederin Biosynthetic Capabilities by the Bacterial symbiont of Paederus fuscipes Beetles. *Journal of Bacteriology*. 2004. 186(5): 1280-1286.

- [25]Kang C, Jin YB, Kwak J, Jung H, Yoon W D, Yoon TJ, Kim JS, Kim E. Protective Effect of Tetracycline Against Dermal Toxicity Induced by Jellyfish Venom. 2013. PLOS ONE 8(3): 1-8.
- [26]EMA. Commite for Veterinary Medicinal Products Chlorhexidine. *The European Agency for the Evaluation of Medical Prosduts veterinary Medicines Evaluation Unit*: 1-4, 1996.
- [27]Hashimoto M, Tjanderhane L, Tay FR, Ito S, Sano H, Pashley D. Effect of Chlorhexidine on MMP Activity of Human Dentin. [internet]. 2005 [cited from 19 September 2015]. Available from https://iadr.confex.com/iadr/2005Balt/techprogram/abstract_58417.htm.
- [28]Montagner AF, Sarkis OR, Pereira CT, Cenci MS. MMP Inhibitor on Dentin Stability a Systematic Review and Meta-analysis. JDR [online]. 2014 [cited from 19 September 2015]. Availabel from: <http://jdr.sagepub.com/content/93/8/733.abstract>.

