



Effectiveness of The Antibacterial Activity on *Orthosiphon aristatus* Leaves Extract Against *Proteus mirabilis* and *Staphylococcus saprophyticus*

Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Terhadap Bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus*

Khairun Nisak*, Chylen Setiyo Rini

Prodi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu kesehatan, universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Jl. Raya Rame Pilang No. 4 Wonoayu, Sidoarjo, 61261, Jawa Timur, Indonesia

ABSTRACT

Orthosiphon aristatus is traditional medicinal plants. *Orthosiphon aristatus* leaves contains alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, and phenolic which are antibacterial compounds. *Proteus mirabilis* and *Staphylococcus saprophyticus* can cause urinary tract infections. This study aims to determine the optimum concentration of *Orthosiphon aristatus* leaves extract against *Proteus mirabilis* and *Staphylococcus saprophyticus*. This research is an experimental study. This research was carried out in the Bacteriology laboratory of the Muhammadiyah University of Sidoarjo. Antibacterial activity test of *Orthosiphon aristatus* leaves extract used the disc diffusion method at a concentration of 25%, 50%, 75%, 100%. This test is performed 3 times. Measurement of the diameter of the zone of inhibition is measured using a caliper. The data obtained were tested statistically with Anova with a significant level of 0.05 (5%). The results showed that the *Orthosiphon aristatus* leaves at a concentration of 25%, 50%, 75%, 100% had a significant effect on *Proteus mirabilis* with an average of 6.22 mm, 9.36 mm, and 15.55 mm, 21.22 mm and *Staphylococcus saprophyticus* with a mean of 5.4 mm, 8.8 mm, 14.53 mm, and 20.71 mm.

Keywords: Antibacterial, *Orthosiphon aristatus*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus saprophyticus*

ABSTRAK

Kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) merupakan salah satu tanaman obat tradisional. Daun kumis kucing memiliki kandungan senyawa alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, dan fenolik yang dipercaya memiliki kemampuan sebagai antibakteri. *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui konsentrasi optimum ekstrak daun kumis kucing terhadap *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dan dilakukan di laboratorium Bakteriologi Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing menggunakan

OPEN ACCESS

ISSN 2580-7730 (online)

Edited by:

Andika Aliviameita

***Correspondence:**

Khairun Nisak
khairunnisakk999@gmail.com

Received: 15 September 2021

Accepted: 30 Oktober 2021

Published: 31 Desember 2021

Citation:

Nisak K and Rini SC (2021)

Effectiveness of The Antibacterial Activity on *Orthosiphon aristatus* Leaves Extract Against *Proteus mirabilis* and *Staphylococcus saprophyticus*

Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology).

4:2.

doi:

10.21070/medicra.v4i2.1582

difusi cakram dalam variasi konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%. Pengujian ini dilakukan 3 kali pengulangan. Pengukuran diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Data yang diperoleh diuji statistik Anova dengan taraf signifikan 0,05 (5%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiph aristatuson*) pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% berpengaruh nyata terhadap bakteri *Proteus mirabilis* dengan rata-rata sebesar 6,22 mm, 9,36 mm, 15,55 mm, 21,22 mm dan *Staphylococcus saprophyticus* dengan rata-rata sebesar 5,4 mm; 8,8 mm; 14,53 mm; 20,71 mm.

Kata Kunci: Antibakteri, Kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*), *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus saprophyticus*

PENDAHULUAN

Infeksi adalah salah satu permasalahan kesehatan yang ada di dunia yang dapat diakibatkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan parasit. Menurut World Health Organization, Infeksi saluran kemih (ISK) per tahun dilaporkan sebanyak 8,3 juta kasus dan infeksi saluran kemih ini merupakan infeksi yang kedua tersering pada tubuh setelah infeksi saluran pernapasan. Wanita lebih sering dijumpai infeksi ini daripada laki-laki WHO (2013).

Salah satu bakteri penyebab infeksi saluran kemih adalah bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Upaya masyarakat dalam mengatasi masalah kesehatan, salah satunya dengan menggunakan atau memanfaatkan khasiat obat tradisional, salah satunya adalah daun kumis kucing. Tanaman ini mempunyai manfaat sebagai peluruh kencing (diuretik), anti radang, dan dapat menurunkan demam serta dapat meluruhkan batu saluran kencing dan memiliki beberapa kandungan kimia, diantaranya alkoid, saponin, tannin, minyak atsiri, dan kalium Widiyastuti (2015).

Didukung oleh penelitian Suta (2014) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kumis kucing mempunyai aktivitas antibakteri kepada bakteri *Klebsiella pneumonia* pada konsentrasi 25% didapatkan zona hambat dengan rata-rata 12,2 mm. Pada 50% di dapatkan zona hambat dengan rata-rata 13 mm. pada 75% di dapatkan zona hambat dengan rata-rata 13,8 mm sedangkan pada konsentrasi 100% sebesar 15,8 mm. Konsentrasi tinggi pada ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus Benth*) mempunyai pengaruh terhadap terhadap luas zona hambat pertumbuhan isolate klinis *Klebsiella pneumonia*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Alshaws et al. (2012) daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus Benth*) terdapat senyawa kimia yang mempunyai daya hambat antibakteri ialah, alkoid, saponin, tannin, flavonoid. Hal ini dibuktikan dengan munculnya diameter zona hambat pada bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus agalactiae*. Hal tersebut menjadikan tanaman ini sebagai acuan untuk penggunaan obat herbal.

METODE

Metode penelitian adalah metode eksperimental laboratoris dengan 6 perlakuan yaitu konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, ampicillin sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif dengan jumlah pengulangan 3 kali.

Bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus* diambil dari biakan murni Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Penelitian dilakukan pada bulan Januari s.d. Maret 2021. Untuk uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Jurusan Kimia Universitas Negeri Surabaya.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, autoclave, oven, jangka sorong atau penggaris, cawan petri, gelas kaca, erlenmeyer, bunsen, kaki tiga, kasa, pipet volume, pinset, spirtus, rak tabung, pipet, blender.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) yang diperoleh dari Probolinggo, aquades steril, etanol 96%, kapas berlemak, spirtus, media Na, media MAC, media MSA, media Mueller-Hinton, Standart Mc farland 0,5, biakan murni *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus*, antibiotik Ampicillin.

Prosedur pembuatan ekstrak yaitu: daun Kumis Kucing yang masih segar dan hijau dibersihkan dan ditimbang sebanyak 3 kg, kemudian dikeringkan selama 3x24 jam. Daun kumis kucing yang sudah kering ditimbang sebanyak 1350 gram kemudian diblender hingga mejadi serbuk sebanyak 756 gram. Simplisia daun kumis kucing yang digunakan sebanyak 200 gr kedalam toples kaca besar untuk dilakukan maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sampai tiga kali. Sebelum dilakukan ekstraksi terlebih dahulu dilakukan maserasi, yaitu dengan cara simplisia daun kumis kucing direndam dengan etanol 96%, perbandingan pertama serbuk daun kumis kucing : etanol adalah 1:3, perendaman kedua dan ketiga 1:2 masing selama 24 jam. Hasil maserasi disaring dengan kain hingga dihasilkan filtrate etanol daun kumis kucing, kemudian filtrat daun kumis kucing diuapkan secara rotary vacuum epaporator Ningsih et al. (2016). Hitung rendemen menggunakan satuan persen dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100$$

Kemudian pembuatan konsentrasi dengan cara menimbang ekstrak daun kumis kucing sesuai dengan konsentrasi kemudian di larutkan dengan DMSO 10%.

Biakan murni *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus* di inokulasi pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu masing-masing bakteri diambil 1 ose dan diinokulasi pada PZ steril sampai didapatkan kekeruhan setara dengan standart Mc farland 0,5, kemudian swab steril yang berisi bakteri diinokulasikan dan diratakan pada media MHA (Mueller Hinton Agar), kertas cakram yang berisi ekstrak pare di letakkan diatas media MHA lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C Pengamatan dan pengukuran berdasarkan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong, luas diameter zona bening dengan kategori lemah (≤ 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (≥ 20 mm) (Toy et al., 2015) dan diukur dengan rumus:

$$\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Pada penelitian ini menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus*

saprothycus. Metode yang digunakan untuk menguji antibakteri menggunakan metode difusi yaitu menggunakan kertas cakram pada media Muller Hinton (MHA) sedangkan metode yang di gunakan untuk memperoleh ekstrak adalah metode maserasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis skrining uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1. Uji efektivitas ekstrak daun kumis kucing terhadap bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus* menggunakan 6 perlakuan yang terdiri dari konsentrasi 100%, 50%, 75%, 25%, ampicillin sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dengan pengamatan diameter zona bening sebagai indikator penghambat pertumbuhan bakteri. Hasil dari zona hambat yang terbentuk dalam inkubasi 1x24 jam dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Menurut klasifikasi Morales et al. (2003), reaksi penghambatan pertumbuhan yang kuat ditunjukkan pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hal ini didukung penelitian Ho et al (2010), menggunakan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% pada ekstrak methanol daun kumis kucing menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif seperti *Bacillus cereus* dan *Klebsiella pneumonia*.

Kemudian dilakukan uji efektifitas anti bakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprothycus* dengan metode metode difusi yaitu menggunakan kertas cakram pada media Muller Hinton (MHA). Untuk menilai besarnya daya hambat dari ekstrak dilihat dari terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram.

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan setiap masing-masing perlakuan. Pada bakteri *Proteus mirabilis* diameter zona hambat paling besar diperoleh pada kontrol positif dengan rerata 26,78 mm dan diikuti pada konsentrasi 100% (21,22 mm), 75% (15,55 mm), 50% (9,36 mm), 25% (6,22 mm). Berdasarkan kategori zona hambat konsentrasi 100% memiliki kategori zona hambat sangat kuat, konsentrasi 75% memiliki kategori zona hambat kuat sedangkan pada konsentrasi 50% dan 25% memiliki kategori zona hambat sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* gambar zona hambat bakteri dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada Tabel 3 bakteri *Staphylococcus saprothycus* zona hambat paling besar diperoleh pada kontrol positif dengan rerata 28,74 mm dan diikuti pada konsentrasi 100% (20,71 mm), 75% (14,53 mm), 50% (8,8 mm), 25% (5,4 mm). Berdasarkan kategori zona hambat konsentrasi 100% memiliki kategori zona hambat sangat kuat, konsentrasi 75% memiliki kategori zona hambat kuat sedangkan pada konsentrasi 50% dan 25% memiliki kategori zona hambat sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus*

mirabilis gambar zona hambat bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada penelitian ini, ekstrak daun kumis kadar konsentrasi terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprothycus* adalah pada konsentrasi 100% karena memiliki rata-rata zona hambat yang paling besar. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10% menunjukkan tidak adanya hambatan terhadap masing-masing replikasi. Kontrol positif menggunakan antibiotik ampicillin, dari hasil tersebut ampicillin memiliki hambat kuat pada masing-masing bakteri karena ampicillin merupakan antibiotik yang dapat menghambat bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kumis kucing memiliki efek antibakteri dan memberikan efek terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus* dikarenakan pada daun kumis kucing memiliki senyawa yang bersifat sebagai antibakteri yaitu fenolik, alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin. Didukung dengan penelitian Alshaw et al. (2012), bahwa daun kumis kucing memiliki beberapa senyawa yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan minyak atsiri.

Berdasarkan uji One Way Anova terhadap diameter zona hambat bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus* diperoleh nilai signifikan $p=0,000$ yang berarti $<0,05$ maka hipotesisnya H_0 dalam penelitian ini ditolak artinya ada pengaruh yang nyata pemberian ekstrak daun kumis kucing terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus*.

Berdasarkan uji Duncan 5% pada Tabel 1 dan Tabel 2 menunjukkan notasi huruf pada masing-masing perlakuan tidak ada yang sama, artinya setiap perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda-beda. Berdasarkan hasil uji Post Hoc LSD didapatkan hasil keseluruhan antar kelompok memiliki tanda (*) artinya ada perbedaan yang signifikan antar keseluruhan kelompok.

Perbedaan konsentrasi efektif dan diameter zona hambat tersebut diduga karena adanya perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat adalah polimer yang larut dalam air. Sifat larut air yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri Gram positif bersifat lebih polar. Di sisi lain bakteri Gram negatif banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, dan membrane luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel) yang bersifat nonpolar. Keadaan ini mempersulit zat antibakteri masuk kedalam sel menuju sasaran kerja Fadillah et al. (2014).

Hal ini didukung oleh penelitian Syarifah et al. (2018) menyatakan bahwa perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri dapat dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Bakteri Gram negatif hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat, maka dinding bakteri Gram negatif seperti *Salmonella sp.* dan

Escherichia coli lebih rentan terhadap gangguan fisik, seperti pemberian antibakteri.

pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Dan Kadar optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus saprophyticus* adalah konsentrasi 100% karena memiliki rata-rata zona hambat yang yang paling besar dengan rata-rata zona hambat sebesar 21,22 mm dan 20,71 mm.

KESIMPULAN

Ekstrak daun kumis kucing pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% memiliki kemampuan untuk menghambat

TABEL 1. Hasil Uji Fitokimia

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil (Terbentuknya)	Kesimpulan (+) / (-)
Alkaloid	Mayer	Endapan jingga	++
	Wagner	Endapan Coklat	++
	Dragendorf	Endapan putih	++
Flavonoid	Mg + HClpekat + etanol	Warna merah	-
Saponin	-	Adanya busa stabil	+++
Steroid	Liberman-Burehard	Ungu ke biru/hijau	+
Triterpenoid	Kloroform+H2SO4pekat	Merah kecoklatan	+
fenolik	NaCl 10% + Gelatin 1%	Endapan putih	+++
Tanin	FeCh 1%	Coklat kehijauan	+

TABEL 2. Hasil Rata-rata Diameter Zona Hambat dan Uji Duncan 5% Ekstrak Daun Kumis Kucing Terhadap Pertumbuhan *Proteus mirabilis*

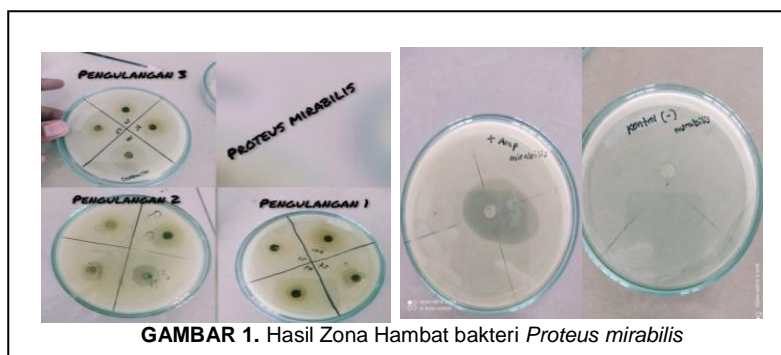
Pengulangan	Konsentrasi (mm)				
	25%	50%	75%	100%	+
1	6,03	9,15	15,21	21,02	26,72
2	6,24	9,42	15,64	21,24	26,82
3	6,41	9,52	15,82	21,41	26,81
Zona hambat rata-rata	6,22 ^a	9,36 ^b	15,55 ^c	21,22 ^d	26,78 ^e

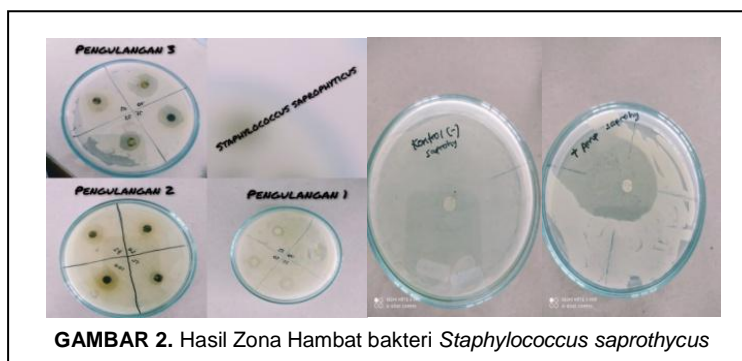
Keterangan: a, b, c, d, e: setiap perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda-beda

TABEL 3. Hasil Rata-rata Diameter Zona Hambat dan Uji Duncan 5% Ekstrak Daun Kumis Kucing Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus saprophyticus*

Pengulangan	Konsentrasi (mm)				
	25%	50%	75%	100%	+
1	5,22	8,65	14,31	20,6	28,71
2	5,42	8,82	14,47	20,72	28,75
3	5,56	8,94	14,82	20,81	28,78
Zona hambat rata-rata	5,4 ^a	8,8 ^b	14,53 ^c	20,71 ^d	28,74 ^e

Keterangan: a, b, c, d, e: setiap perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda-beda





GAMBAR 2. Hasil Zona Hambat bakteri *Staphylococcus saprothycus*

KONTRIBUSI PENULIS

Penulis pertama berperan utama dalam pengumpulan data, sedangkan penulis kedua membantu dalam penyusunan artikel.

PENDANAAN

Dana penelitian berasal dari dana mandiri peneliti.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

REFERENSI

- Alshaws, M. A., Abdulla, M. A., Ismail, S., Amin, Z. A., Qader, S. W., Hadi, H. A., dan Harmal, N. S. (2012). Antimicrobial and immuno modulatory activities of orthosiphon stamineus benth. *Journal of Molecular medicine*. 17(2): 538-539. Retrieved from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6268021/>
- Fadillah, Fairuz. M. J., Suharni, M., dan Wan, N. S. S. (2014) Antibacterial effect of banana pulp extracts based on different extraction methods against selected microorganisms. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 04(36): 14-19. doi : 10.15272/AJBPS.V4I36.553
- Ho, C. H., Noryati, I., Sulaiman, S. F., dan Rosma, A. (2010). *In vitro* antibacterial and antioxidant activities of *Orthosiphon stamineus* Benth. Methanol extracts against food-bornebacteria. *Food Chemistry* 122 :1168-1172
- Morales, G., Sierra, P., Mancilla, A., Paredes, A., Loyola, L. A., Gallardo, O., dan Borquez, J. (2003). Secondary metabolites from four medicinal plants from northern chile : Antimicrobial Activity and Biototoxicity Against *Artemia salina*. *Journal of The Chilean Chemical Society*. 48(2):13-18. doi: 10.4067/S0717-97072003000200002
- Ningsih, N. F., Ratnasari, E., dan Faizah, U. (2016). Pengaruh Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap Mortalitas Hama Wereng Coklat (*Nilaparvata lugens*). *LenteraBio* Vol. 5 No. 1, 14-19. Retrieved from: <https://jurnalmahasiswa.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/14554>
- Suta, A. M. (2014). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus Benth*) terhadap *Klebsiella pneumonia*. *ETD Universitas Syiah Kuala*. Retrieved from: https://etd.unsyiah.ac.id/index.php?p=show_detail&id=4670
- Syarifah, R., Fakhruddin, Harris, A., Sutriana, A., Erina, dan Winaruddin. (2018). Uji daya hambat ekstrak biji buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Mahasiswa Veteriner*. 2(3). doi: 10.21157/jim%20vet..v2i3.8203
- Toy, T. S. S., Benedictus, S., Lampus., Bernat, S.P., dan Hutagalung. (2015). Uji daya hambat ekstrak rumput laut *Gracilaria* sp terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-GiGi(eG)*. 3 (1): 153-9 doi: doi: 10.35790/eg.3.1.2015.6600
- Widiyastuti, Y. (2015). *Pedoman budidaya panen dan pascapanen tanaman obat*. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- World Health Organization. (WHO). (2013). *Kesehatan reproduksi wanita dan infeksi saluran kemih (ISK)*. Jakarta: Salemba Medika.

83

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2021 Nisak and Rini. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.