



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL FRUTO DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)
FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES

Bach. CHUMACERO SANTOS, CARMEN MARÍA

<https://orcid.org/0000-0003-2607-0886>

Bach. TORRES HOYOS, ANY FIORELY

<https://orcid.org/0000-0003-0213-1111>

ASESOR

Dr. RODRIGUEZ LICHTENHELDT, JOSÉ EDWIN

<https://orcid.org/0000-0003-1876-6496>

LIMA – PERÚ

2023

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, ANY FIORELY TORRES HOYOS, con DNI 72944914, en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO¹ que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud 24% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 23 días del mes de noviembre del año 2022.



ANY FIORELY TORRES HOYOS
DNI: 72944914



DR. JOSE EDWIN RODRIGUEZ LICHTENHELD
DNI 10734121

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174- 2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, , CARMEN MARIA CHUMACERO SANTOS, con DNI 71229010, en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO² que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud 24% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 23 días del mes de noviembre del año 2022.



CARMEN MARIA CHUMACERO SANTOS
DNI:71229010



DR. JOSE EDWIN RODRIGUEZ LICHTENHELD
DNI:10734121

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

² Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174- 2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

INFORME DE ORIGINALIDAD-TURNITIN

TESIS ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

INFORME DE ORIGINALIDAD

24%

INDICE DE SIMILITUD

25%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.uroosevelt.edu.pe

Fuente de Internet

17%

2

repositorio.uss.edu.pe

Fuente de Internet

3%

3

hdl.handle.net

Fuente de Internet

1%

4

repositorio.uma.edu.pe

Fuente de Internet

1%

5

core.ac.uk

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

DEDICATORIA

A Dios nuestro padre celestial por darnos la vida, salud, sabiduría e inteligencia para lograr nuestras metas y por darnos fortaleza en todo tiempo.

y a las personas importantes en nuestras vidas que son nuestros padres que con su esfuerzo, dedicación, consejos y amor nos hicieron mejores personas; por su apoyo incondicional a lo largo de nuestra formación personal como profesional.

A nuestras hermanas(os), esposo y demás familiares que con sus consejos ayudaron para no desistir y culminar nuestra carrera profesional.

Los autores

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por la vida, por la salud, por guiarnos y darnos fortaleza para seguir adelante.

A nuestros formadores que con sus conocimientos y sabiduría nos ayudaron a llegar al punto en el que estamos, ya que sencillo no ha sido el proceso, pero con sus consejos y conocimientos nos formaron para ser ciudadanas que aportemos y ayudemos en el ámbito de la salud.

Los autores

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. 10	
II. 15	
II.1. 15	
II.2. 15	
II.3. 16	
II.4. 16	
II.5. 17	
II.6. 18	
II.7. 18	
III. 20	
IV. 26	
4.1. Discusión de resultados	25
4.2. Conclusiones	27
4.3. Recomendaciones	28
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
ANEXOS	32

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Metabolitos presentes en el extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni) con actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	20
Tabla 2. Estadística descriptiva para los grupos experimentales y control	21
Tabla 3. Estadística descriptiva para los grupos control	21
Tabla 4. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos	23
Tabla 5. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)	23
Tabla 6. Análisis de la varianza (ANOVA)	24
Tabla 7. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	24
Tabla 8. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	25

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura: 1 Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni) frente a <i>Streptococcus mutans</i>	22
Figura 2. Recolección de la planta	40
Figura 3. Selección, lavado y desinfección de la muestra	41
Figura 4. Preparación del macerado de la muestra vegetal	42
Figura 5. Preparación de los extractos de noni	43
Figura 6. Estudio fitoquímico	44
Figura: 7. Preparación del inóculo de trabajo	45
Figura 8. Acondicionamiento de los pozos en agar	45
Figura 9. Incubación de <i>Streptococcus mutans</i> en condiciones anaeróbicas	46
Figura: 10. Medición de los halos de inhibición:	46

ÍNDICE DE ANEXOS

	Páginas
Anexo 1. Instrumento de recolección de datos	33
Anexo 2. Matriz de consistencia	34
Anexo 3. Operacionalización de las variables	35
Anexo 4. Certificado botánico	36
Anexo 5. Certificado de Streptococcus mutans ATCC	37
Anexo 6. Carta de aceptación del propietario del terreno	39
Anexo 6. Fotografías del trabajo de campo	40

RESUMEN

Objetivo: Demostrar la actividad antibacteriana del extracto etanólico in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Métodología: El estudio se basó en un enfoque cuantitativo, prospectivo de corte transversal con diseño experimental donde se emplearon dos grupos control (positivo y negativo), la población estuvo conformada por la especie vegetal *Morinda citrifolia* L. (noni) recolectada en el distrito de Chiclayo, provincia de Chiclayo y departamento de Lambayeque de cual se tomó una muestra de 4 kilos del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) mediante muestreo no probabilístico, los datos recolectados se evaluaron mediante estadística inferencial con un alfa de 0.05 para contrastar la hipótesis del estudio.

Resultados: El estudio fitoquímico realizado evidenció la presencia de taninos (+), y alcaloides (+) en baja cantidad y saponinas (++) en mediana cantidad, así mismo, se obtuvieron halos de inhibición de $19,68 \pm 0,36$ mm para el extracto etanólico de Noni al 100%, de $15,59 \pm 0,30$ mm para el extracto etanólico de Noni al 75% y de $14,45 \pm 0,38$ mm para el extracto etanólico de noni al 50%, así mismo, el control positivo (clorhexidina 0.12%) presentó halo de inhibición de $24,00 \pm 0,35$ mm y el control negativo (etanol 96°) fue de $5,90 \pm 0,40$ mm, se observó mayor actividad antibacteriana en el control positivo comparado con los extractos mediante la prueba de ANOVA y Tukey.

Conclusión: El extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) demostró actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, pero fue menor que la clorhexidina al 0.12%.

Palabras clave: *Streptococcus mutans*, Noni, *Morinda citrifolia* L., extracto etanólico, antibacteriana.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the antibacterial activity of the in vitro ethanolic extract of the fruit of *Morinda citrifolia* L. (noni) against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Methodology: The study was based on a quantitative, prospective cross-sectional approach with an experimental design where two control groups (positive and negative) were used, the population was made up of the plant species *Morinda citrifolia* L. (noni) collected in the district of Chiclayo, province of Chiclayo and department of Lambayeque from which a sample of 4 kilos of the fruit of *Morinda citrifolia* L. (noni) was taken through non-probabilistic sampling, the data collected was evaluated through inferential statistics with an alpha of 0.05 to contrast the hypothesis of the study.

Results: The phytochemical study carried out showed the presence of tannins (+), and alkaloids (+) in low quantity and saponins (++) in medium quantity, likewise, inhibition halos of 19.68 ± 0.36 mm were obtained for the 100% ethanolic extract of Noni, 15.59 ± 0.30 mm for the 75% ethanolic extract of Noni and 14.45 ± 0.38 mm for the 50% ethanolic extract of noni, likewise, the control The positive control (chlorhexidine 0.12%) presented an inhibition halo of 24.00 ± 0.35 mm and the negative control (ethanol 96°) was 5.90 ± 0.40 mm, greater antibacterial activity was observed in the positive control compared to the extracts. using the ANOVA and Tukey test.

Conclusion: The ethanolic extract of the fruit of *Morinda citrifolia* (noni) showed antibacterial activity against *Streptococcus mutans* ATCC 25175, but it was less than 0.12% chlorhexidine.

Keywords: *Streptococcus mutans*, Noni, *Morinda citrifolia* L. , ethanolic extract, antibacterial.

I. INTRODUCCIÓN

Streptococcus mutans, es un patógeno comunitario y nosocomial que se ha convertido en una amenaza mundial, debido a los altos niveles de resistencia a varios antibióticos. Anualmente se han reportado cerca de 700.000 decesos como consecuencia de infecciones por microorganismos infecciosos resistentes y también dos millones de personas fueron infectados por estos microorganismos. Debido a ello, el continente europeo gasta más de 1,500 millones de euros en la terapia farmacológica para enfermedades infecciosas por microorganismos resistentes, en el que se encuentra la bacteria *Streptococcus mutans*, además, cada año la unión europea reporta que 25,000 habitantes fallecen por el mismo motivo. Por otro lado, Estados Unidos también informó que al año fallecen cerca de 23,000 habitantes por el mismo problema de las infecciones por microorganismos resistentes¹.

Streptococcus mutans, es una bacteria que tiene una alta incidencia en enfermedades bucales relacionadas con la mala higiene y caries dental, así mismo, esta bacteria llega a producir otras patologías bacterianas a otras partes del cuerpo, esto se complica más aún cuando genera factores de resistencia similares a *Staphylococcus aureus*². Esta bacteria entre otras está generando cifras elevadas de farmacoresistencia en todo el mundo, razón por la cual el sistema de vigilancia mundial de antimicrobianos realizó una investigación en 22 países y los resultados indicaron que en dichos países 500,000 personas son resistentes a fármacos antibacterianos contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Escherichia coli*³.

A nivel nacional, nuestro país no es ajeno a esta realidad, ya que existen publicaciones científicas de bacterias resistentes a los medicamentos antibacterianos, lo que se ha relacionado con el uso irresponsable e inconsciente de estos fármacos, no solo a nivel de las personas sino también en su uso con los animales, es por eso que el estado peruano a través de sus organismos competentes viene desarrollando políticas para el control de los fármacos antibióticos⁴.

A través, de esta investigación se ha tomado como punto de referencia la

problemática planteada en los párrafos anteriores y las propiedades antibacterianas que podría tener el fruto de la especie *Morinda citrifolia* L. (noni) para que pueda ser utilizado como fitoterapia en las infecciones ocasionadas por *Streptococcus mutans*. Ante lo mencionado se pretende determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (NONI) a diferentes concentraciones sobre la bacteria en mención, por medio de un estudio experimental realizado en un laboratorio.

Por tal motivo, la presente investigación ha tomado en cuenta el problema de la resistencia bacteriana y los reportes sobre los efectos que puede presentar el fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) en el tratamiento de las infecciones, es por ello que se busca demostrar de forma experimental, in vitro, su efecto antibacteriano empleando *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con el propósito de servir, aportar y ayudar a la problemática local manifestada en nuestra sociedad.

Morinda citrifolia L. , conocido popularmente como noni, pertenece a una de las familias más grandes de las angiospermas, las *Rubiaceae*. Esta familia es caracterizada por sus especies de tipo arbusto y por encontrarse en todo el mundo. El género *Morinda* abarca cerca de 40 especies que se encuentra distribuidas en varios continentes y ha despertado el interés de los investigadores de *Morinda citrifolia* L. , debido a que se han identificado más de 100 metabolitos y sus efectos están relacionados con la actividad antibacteriana, antioxidante, antiviral, antifúngica, antitumoral, antihelmíntica, analgésica, antiinflamatoria, hipotensora e inmunoestimulante⁵.

El noni es una fruta exótica nativa del continente asiático, la planta mide de 3 a 10 metros de largo; su tronco es recto con nudos; sus hojas son opuestas y miden de 20 a 45cm de largo por 7 hasta 25cm de ancho; sus flores son de color blanco; su fruto es carnoso, ovoide, mediano, proveniente de una drupa, presenta una coloración verde cuando está maduro; la pulpa del fruto es de color blanco, es comestible, sin embargo, se suele tomar con otras frutas por su sabor peculiar, en su interior presenta varias semillas de color negro, en forma de triángulo. Todas las partes de *Morinda citrifolia* L. son utilizadas por sus propiedades medicinales⁶.

Las semillas del noni suelen ser utilizadas como laxante, las hojas se utilizan

tópicamente como analgésico y como antiinflamatorio, la corteza del tallo como astringente y antimalárico, la raíz se utiliza por sus efectos hipotensores, las esencias de las flores como colirio y el fruto considerado la parte más valiosa es utilizado en afecciones de úlcera, hipertensión, reumatismo, estimulante, infecciones intestinales, tuberculosis y tumores tipo sarcoma⁷.

Dentro de los compuestos fitoquímicos, los componentes fenólicos más importantes son las antraquinonas que constituyen el grupo de las quinonas naturales, que son sustancias fenólicas derivadas de la dicetona y el antraceno, representando significativamente las actividades biológicas. Los derivados de antraquinona son solubles en agua o alcohol. Los compuestos fenólicos identificados representan el grupo más grande de micronutrientes funcionales que se encuentran en el jugo de “noni”⁷.

Por otro lado, *Streptococcus mutans*, es una bacteria grampositiva perteneciente a la familia Streptococcaceae, se encuentran en forma de cocos formando pares o cadenas, no presenta flagelos, no produce espora, son catalasa negativa y su metabolismo es anaerobio facultativo, son esféricas y miden menos de 2µm de diámetro. *Streptococcus mutans* es un microorganismo especial en cuanto a requerimiento nutricionales, ya que varían de acuerdo a la especie, por lo que la mayoría crecerá mejor en agar con sangre o suero⁸.

Normalmente es conocido como patógeno de la cavidad oral, pero también puede ser causante de una bacteremia y endocarditis infecciosa. Cuando *S. mutans* es cultivado y se lleva a incubación después de 18 a 24 horas las colonias formadas miden 0.3 a 2 mm de diámetro, son de color blanco, opacas, circulares con bordes definidos y su hemólisis es variable⁹.

Los estudios internacionales, relacionados con nuestro tema citan a Ahmed A. (2017), de título “Antibacterial efficacy and effect of *Morinda citrifolia* L. mixed with irreversible hydrocolloid for dental impressions: A randomized controlled trial”. El propósito del estudio fue comprobar la eficacia antibacteriana y efecto de la especie *Morinda citrifolia* L. combinada con un hidrocoloide de uso en impresiones dentales. Después de 48 horas se pudo comprobar que el extracto de *Morinda citrifolia* L. junto con el hidrocoloide redujo la cantidad de microorganismos (2.2×10^6 a 0.05×10^6) a comparación del agua¹⁰.

También, Bhardwaj A. (2017), en su estudio “Comparative evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts of *Morinda citrifolia* L. papain and aloe vera (all in gel formulation), 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide, against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study” I objetivo fue ejecutar una evaluación comparativa de la actividad antimicrobiana de extractos naturales de *Morinda citrifolia* L., papaína y aloe vera (todos en formulación de gel), gel de clorhexidina al 2% e hidróxido de calcio, contra *Enterococcus faecalis*. Los resultados señalan que el porcentaje global de inhibición del crecimiento bacteriano (200 y 400µm de profundidad) fue del 100% con gel de clorhexidina, le siguió el gel de *M. citrifolia* L. (86,02%), que mostró una mejor eficacia antimicrobiana en comparación con el gel de aloe vera (78,9%), el gel de papaína (67,3%) y el hidróxido de calcio (64,3%)¹¹.

Por su parte, Babaji P. (2017), y su investigación “Comparative evaluation of antimicrobial effect of herbal root canal irrigants (*Morinda citrifolia* L. *Azadirachta indica*, *Aloe vera*) with sodium hypochlorite: An in vitro study”. Definió como objeto de estudio realizar un estudio comparativo del efecto antimicrobiano del conducto radicular de las especies de *Morinda citrifolia* L., *Azadirachta indica* y *Aloe vera* versus el hipoclorito de sodio. Se pudo observar que el hipoclorito de sodio formó un mayor halo de inhibición (28.6mm) contra *E. faecalis* y el extracto de *Morinda citrifolia* L. formó un halo de 14,7mm¹².

A nivel nacional, se citan los estudios referidos a nuestro tema, como el de los autores Altamirano L. et al (2021), con su estudio “Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. (noni) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*”. El objeto de estudio se basó en investigar in vitro si el extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. inhibe las cepas de *Staphylococcus aureus*. Se concluyó que el extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. presenta efecto antibacteriano sobre la cepa *S. aureus*, debido a que formó un halo de inhibición de 16.22mm y que, además, a medida que aumenta la concentración el efecto también es mayor¹³.

Del mismo modo, Díaz M. et al (2021), en su investigación definieron como objetivo evaluar la acción antibacteriana de *Morinda citrifolia* L. y *Foeniculum vulgare*, mediante un extracto y exponerlo sobre *Staphylococcus aureus*. Los

resultados confirmaron la acción antibacteriana de las dos especies trabajadas, pues el noni en concentraciones de 50 y 100% formó un halo de 16.99mm y 23.01mm; por su parte, el *F. vulgare* en concentraciones de 50 y 100% también formó halos de 16.61mm y 18.07mm¹⁴.

Para terminar, Oliva J. (2019), en su estudio experimental, investigó in vitro el efecto antibacteriano de un extracto acuoso y etanólico en diferentes concentraciones obtenidos del fruto *Morinda citrifolia* L. “noni” frente a la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 35668; los hallazgos observados confirmaron el efecto antibacteriano de los extractos del noni, pues formaron diámetros de inhibición de 23.5mm y 21mm en concentraciones de 75mg/mL y 50mg/mL respectivamente¹⁵.

En ese sentido, se plantea el objetivo general, demostrar la actividad antibacteriana del extracto etanólico in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se plantea también la hipótesis general del estudio, el extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) tiene actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación^{16,17}

- Tiene un enfoque cuantitativo, porque utiliza la información recolectada para un estudio estadístico con la finalidad de extrapolar dicha información y predecir en base a valores numéricos.
- Es transversal, porque los datos recopilados fueron tomados en un solo momento.
- Es de tipo prospectivo, porque hace referencia al estudio de las variables durante la ejecución de la investigación en un tiempo futuro.
- Su diseño es experimental, ya que el investigador fue el encargado de controlar o manipular las variables del estudio y explicar la causa-efecto entre ellas

II.2. Población, muestra y muestreo¹⁸⁻²⁰

Población: Está referida a los 08 kilogramos del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni), del cual se quiere conocer su actividad antibacteriana frente a *S. mutans*. Para ello la población fue recolectada del distrito de Chiclayo, provincia de Chiclayo y departamento de Lambayeque, correspondiente a las coordenadas geográficas 6.7676° de Latitud Sur y 79.8224° de longitud Oeste a una altura de 43 metros sobre el nivel del mar.

Asimismo, la emisión de la certificación taxonómica del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) fue realizada por un profesional Biólogo, especialista en identificación botánica.

Muestra: es una parte de la población que fue usada para realizar la investigación, para el presente estudio se utilizaron 4 kilos del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni), seleccionados según los criterios de inclusión y exclusión mediante un proceso de observación, con el fin de seleccionar los frutos que no estén en mal estado, luego pasaron por un proceso de desinfección con hipoclorito de sodio al 0.1% mezclado en abundante agua.

Unidad de análisis: corresponde a la cepa microbiológica *Streptococcus mutans* ATCC 25175, la cual fue adquirida del Laboratorio Microbiologics, quien brindó el certificado de análisis correspondiente de la cepa.

Criterios de inclusión: Dentro de los criterios de inclusión para la selección de la muestra se consideró el fruto maduro, de tamaño y forma homogéneos, recolectado de la zona de la población en estudio, con identificación taxonómica previa a la recolección por un profesional botánico.

Criterios de exclusión: Dentro de los criterios de exclusión se consideró que el fruto no haya sido recolectado directamente de la planta, contaminado o con signos de putrefacción o inmadurez, así presencia de plagas, haber sido tratado con pesticidas.

Muestreo: son técnicas utilizadas para que las muestras sean de fácil acceso, por lo tanto, en nuestro estudio se aplicó el tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia, debido al fácil acceso y disponibilidad del lugar de recolección de la muestra

II.3. Variables de investigación

- **Variable independiente:** Extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni)

Definición conceptual: es un preparado extraído de la droga vegetal con etanol de 96° que presenta propiedades medicinales.

Definición operacional: Extracción por la técnica de maceración

- **Variable dependiente:** Actividad antibacteriana in vitro frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Definición conceptual: Inhibición o muerte del crecimiento celular bacteriano.

Definición operacional: Tamaño del halo inhibitorio

II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Técnicas:

- **Ficha de recolección de datos:** instrumento que permitirá plasmar los datos recogidos sobre el tamaño de los halos inhibitorios en milímetros

formados por el extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) en diferentes concentraciones, los cuales fueron comparados con el control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y el control negativo (etanol 96°).

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1 Elaboración del extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni)

Los frutos seleccionados fueron licuados con cantidad suficiente de etanol 96° para cubrir la muestra, posteriormente fueron colocados en maceración en envases de vidrio de color ámbar con capacidad suficiente para 4 litros, por 10 días, cada 12 horas, se procedió luego a tomar el frasco y agitar la muestra contenida para uniformizar el macerado, al finalizar el tiempo de maceración se procedió a filtrar con papel de filtro Whatman Nro. 01 y luego fue colocado en una estufa a 45°C por 24 horas o hasta su evaporación completa, el extracto obtenido fue reconstituido con etanol a una concentración de 100 mg/ml (100%), 75 mg/ml (75%) y 50 mg/ml (50%).

II.5.2 Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana fue determinada por el método de difusión en pozo, sin embargo, previo a ello la unidad de análisis (*Streptococcus mutans*) fue adquirida del laboratorio Microbiologics. Después, se activó la cepa por disolución y fue sembrada en una placa con agar sangre en un medio anaeróbico y puesta en incubación por 48 horas a una temperatura de 36°C ± 1°.

Después, de las 48 horas, se sacaron las placas cultivadas con *Streptococcus mutans* de la incubadora para preparar el inóculo bacteriano de la cepa. Para ello, mediante la técnica del hisopado en placa se hicieron disoluciones seriadas en varios tubos con suero fisiológico, hasta obtener la escala de MacFarland de 0.5 por observación directa.

Con el inóculo obtenido de *Streptococcus mutans* se sembrará en 10 placas Petri con agar Mueller Hinton (medio estándar) y se realizarán pocitos de 6mm con un sacabocados para poder introducir los 30µL

del extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) en concentraciones de 100%, 75% y 50%.

Para los grupos del control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y el control negativo (etanol 96°) se trataron como los grupos de la variable independiente, con 10 placas con *Streptococcus mutans* y con dos pocitos donde se aplicaron 30µL de Clorhexidina al 0.12% y 30µL de etanol 96°C.

Todas las placas fueron llevadas a la incubadora por 24 horas hasta 48 horas a una temperatura de 37°C ± 2 y después de transcurrido el tiempo se observaron el crecimiento bacteriano y la formación de halos de inhibición alrededor de cada pocito.

La medida de los halos fue tomada con un equipo llamado vernier digital o Pie de rey y su medida fue en milímetros (mm), toda esta información se registró en la ficha de datos del estudio microbiológico. La medida (mm) del halo inhibitorio se relacionó con la actividad antibacteriana del extracto etanólico, in vitro.

II.6. Procesamiento de los análisis estadísticos

Mediante este procedimiento los datos plasmados en la ficha de recolección de datos fueron ingresados al software estadístico SPSS versión 26, se analizaron los datos recolectados mediante la estadística descriptiva, adicionado a ello se aplicaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas para luego aplicar las pruebas de ANOVA y Tukey, todo el análisis estadístico se realizó con un nivel de significancia del 0.05.

II.7. Aspectos éticos

Dentro de este aspecto se considerará el principio de veracidad y autoría sometiendo la investigación al software antiplagio turnitin para demostrarlo, así mismo, los investigadores son los únicos responsables del contenido de la investigación y se someten a las sanciones respectivas en caso se falten a estos principios; así mismo, se aplicó el principio de ética básico, que es la búsqueda del bien, por lo que se mantuvo los criterios de bioseguridad, durante el desarrollo de la parte experimental y el manejo de

material biocontaminado para evitar daños al medio ambiente o a los participantes.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos presentes en el extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (Noni) con actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Prueba	Identificación	Color / Precipitado	Intensidad
Shinoda	Flavonoides	amarillo	-
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos Taninos	Azul violeta Rojo verdoso	- +
Dragendorff	Alcaloides	Naranja ladrillo	+
Bontrager	Quinonas	rojo	-
Liebermann - Burchard	Triterpenos y esteroides	Anillo verde-azulado	-
Espuma	Saponinas	Formación de espuma	++
Test Mucílago	Mucílago	-	-
Sudán III	Aceite y grasas	Rojo	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

- Alta : +++
- Media : ++
- Baja : +
- Ausencia : -

Interpretación:

En la tabla 1, se observan los resultados de la Marcha fitoquímica de los metabolitos secundarios presentes en extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (Noni) que pueden presentar actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observó la presencia en cantidad media (++) de saponinas y en baja cantidad (+) taninos y alcaloides, el resto de ensayos realizados mostró resultados negativo.

Tabla 2. Estadística descriptiva para los grupos experimentales y control

Diámetro del halo de inhibición									
					95% Intervalo de confianza para la media				
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite Inferior	Límite Superior	Mínimo	Máximo	
Morinda citrifolia - 100%	10	19,68	0,36	0,08	19,50	19,87	19,29	20,04	
Morinda citrifolia - 75%	10	15,59	0,30	0,09	15,38	15,80	15,06	15,99	
Morinda citrifolia - 50%	10	14,45	0,38	0,12	14,18	14,73	13,60	14,96	

Fuente: Elaborado por las investigadoras

Interpretación:

En la tabla 2, se muestra los valores medio de halos de inhibición de $19,68 \pm 0,36$ mm para el extracto etanólico de Noni al 100%, de $15,59 \pm 0,30$ mm para el extracto etanólico de Noni al 75% y de $14,45 \pm 0,38$ mm para el extracto etanólico de noni al 50%, así mismo, se muestra la estadística descriptiva de cada grupo de datos.

Tabla 3. Estadística descriptiva para los grupos control

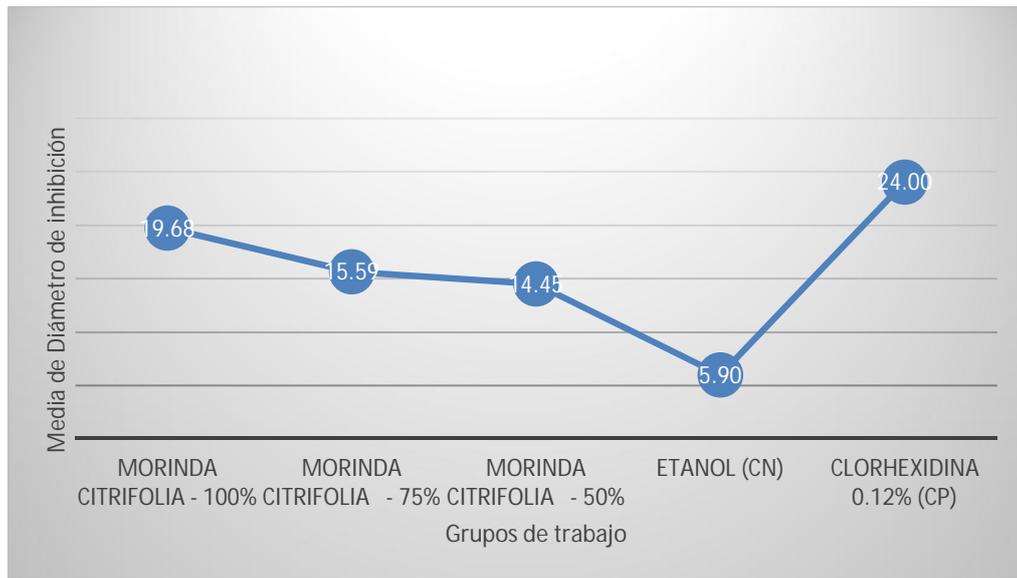
Diámetro del halo de inhibición									
					95% Intervalo de confianza para la media				
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite Inferior	Límite Superior	Mínimo	Máximo	
Etanol (CN)	10	5,90	0,40	0,13	5,60	6,20	5,37	6,63	
Clorhexidina 0.12% (CP)	10	24,00	0,35	0,11	23,75	24,25	23,58	24,75	

Fuente: Elaborado por las investigadoras

Interpretación:

Se muestra los valores medio de halos de inhibición del control positivo (clorhexidina 0.12%) el cual presentó halo de inhibición de $24,00 \pm 0,35$ mm; así mismo, se observa el valor promedio del control negativo (etanol 96°) fue de $5,90 \pm 0,40$ mm y sus parámetros estadísticos de desviación estándar, límites superior e inferior, etc.

Figura 1. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (Noni) frente a *Streptococcus mutans*



Fuente: Elaborado por las investigadoras

En la figura 1, se observa el comportamiento de los grupos experimentales y control en función del tamaño del halo de inhibición obtenidos, se muestran valores mínimos para los extractos de noni al 50%, 75% y 100% de 14,45mm; 15,59mm y 19,68mm respectivamente, siendo estos superiores al grupo control negativo (5,90mm); así mismo, el grupo control positivo representado la clorhexidina al 0.12% muestra un halo de inhibición de 24,00 mm, siendo este el de mayor actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*.

Tabla 4. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos

Grupos de trabajo		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm)	Morinda citrifolia - 100%	0,928	10	0,427
	Morinda citrifolia - 75%	0,932	10	0,469
	Morinda citrifolia - 50%	0,918	10	0,340
	Etanol (CN)	0,925	10	0,396
	Clorhexidina 0.12% (CP)	0,900	10	0,217

Fuente: SPSS ver. 26**Interpretación:**

Se muestra el análisis realizado mediante el software estadístico SPSS ver. 26 para la determinación de la distribución normal de cada grupo de datos trabajados, de las dos pruebas aplicadas se observa que todos los grupos cumplen con una distribución normal luego de comparar sus valores de significancia con el valor alfa de significancia del estudio (0,05).

Tabla 5. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

		Estadístico de Levene	df1	df2	p-valor
Diámetro del halo de inhibición	Basado en la media	0,728	4	45	0,578
	Basado en la mediana	0,465	4	45	0,761
	Basado en la mediana con ajuste de df	0,465	4	39,39	0,761
	Basado en la media recortada	0,696	4	45	0,599

Fuente: SPSS ver. 26**Interpretación:**

Mediante la prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas determinamos el comportamiento homogéneo observado en la recolección de los datos de cada grupo de trabajo, del análisis realizado se observa con respecto al valor basado en la media un valor p de significancia superior al 0,05; por lo tanto, se confirma que los datos recolectados en cada grupo de trabajo presentan homogeneidad de varianzas.

CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS:

H₁: El extracto etanólico in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) tiene mayor actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que la Clorhexidina al 0.12%.

H₀: El extracto etanólico in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) no tiene mayor actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que la Clorhexidina al 0.12%.

Tabla 6. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	1820,967	4	455,242	3784,228	0,000
Dentro de los grupos	5,413	45	0,120		
Total	1826,380	49			

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Mediante la prueba de ANOVA se observó diferencias estadísticamente significativas con respecto al tamaño del halo inhibición promedio de los grupos analizados, mediante la comparación del p-valor (0,00) inferior al valor alfa de 0,05 aceptando la hipótesis alterna, lo que demuestra que los grupos analizados presentan diferentes halos de inhibición.

Tabla 7. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

Diámetro de inhibición						
HSD Tukey ^a						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Etanol (CN)	10	5,90				
Morinda citrifolia - 50%	10		14,45			
Morinda citrifolia - 75%	10			15,59		
Morinda citrifolia - 100%	10				19,68	
Clorhexidina 0.12% (CP)	10					24,00
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Luego del análisis del análisis de la varianza (ANOVA), se procedió a confirmar las diferencias estadísticamente significativas relacionándolas entre sí, para lo cual se desarrolló la prueba de Tukey, el análisis de esta prueba diferencias significativas en todos los grupos de datos, no existiendo actividad antibacteriana similar a la Clorhexidina 0.12%, siendo este superior a los extractos experimentales.

Decisión: Por lo tanto, se acepta la hipótesis H_0 y se rechaza la H_1 que confirma que el extracto etanólico in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) no tiene mayor actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que la Clorhexidina al 0.12%.

Tabla 8. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 14-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Etanol (CN)	5,90			
Morinda citrifolia - 50%			14,45	
Morinda citrifolia - 75%			15,59	
Morinda citrifolia - 100%			19,68	
Clorhexidina 0.12% (CP)				24,00

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Se representan los halos promedios obtenidos por los grupos de tratamiento y control mediante la escala de Duraffourd, donde se puede apreciar que *Streptococcus mutans* presenta Sensibilidad Nula al grupo control negativo, es altamente sensible al extracto de noni al 50%, 75% y 100% y control positivo Clorhexidina 0.12%.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de resultados

El estudio realizado evidenció la actividad antibacteriana del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC25175 con el objetivo de encontrar una fuente natural para el tratamiento de las enfermedades ocasionadas por esta bacteria, además de ayudar a reducir los índices de resistencia bacteriana y disminuir los costos de los tratamientos de estas, en tal sentido se presentan los resultados que se discuten a continuación.

La actividad antibacteriana mostrada del extracto del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) se determinó por medio del método de difusión en pozo mediante la valoración estadística del diámetro del halo de inhibición, los datos recolectados fueron de $19,68 \pm 0,36$ mm para el extracto etanólico de Noni al 100%, de $15,59 \pm 0,30$ mm para el extracto etanólico de Noni al 75% y de $14,45 \pm 0,38$ mm para el extracto etanólico de noni al 50%; por su parte, los grupos control obtuvieron halo de inhibición de $24,00 \pm 0,35$ mm para el control positivo (clorhexidina 1.12%); así mismo, se observa el valor promedio del control negativo (etanol 96°) fue de $5,90 \pm 0,40$ mm.

Altamirano L. et al (2021) expuso el extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. (noni) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* demostrando que este presenta efecto antibacteriano sobre esta bacteria mostrando halos de inhibición al 100% de 16.22mm; resultados similares observó Díaz M. et al (2021) a las concentraciones de 50% y 100% presentó halos de inhibición de 16.99mm y 23.01mm respectivamente sobre la misma bacteria, mostrando que esta especie vegetal muestra actividad antibacteriana debido a los metabolitos secundarios que presenta el extracto etanólico.

Un estudio similar al planteado, fue el realizado por Oliva J. (2019), donde investigó el efecto antibacteriano de un extracto acuoso y etanólico en diferentes concentraciones obtenidos del fruto *Morinda citrifolia* L. "noni" frente a la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 35668 mostraron halos de

inhibición de 23,5mm y 21mm en concentraciones de 75mg/mL y 50mg/mL lo que corrobora los resultados obtenidos con respecto al tamaño de los halos de inhibición obtenidos sobre los cultivos de *Streptococcus mutans*.

Dentro de los metabolitos secundarios que están presentes en los extractos etanólicos de *Morinda citrifolia* L. a los compuestos fenólicos como las antraquinonas y el antraceno, además de coumarinas y compuestos flavonoides los cuales pueden estar aportando esta actividad, los cuales tienen la capacidad de actuar sobre la bacteria como inhibidores del transporte de electrones, interfieren en la fosforilación oxidativa y en la intercalación de la doble hélice del ADN, producen radicales libres entre otras acciones que explicaría su actividad antibacteriana del extracto de *Morinda citrifolia* L.

Por otro lado, las investigaciones realizadas sobre *Morinda citrifolia* L. no solo se circunscribe a la aplicación directa de los extractos sobre medios de cultivo, sino que han demostrado actividad antibacteriana en el uso conjunto con otras sustancias como la investigación realizada por Ahmed A. (2017) donde empleó el extracto del fruto de *Morinda citrifolia* L. "noni" en combinación con un hidrocoloide para el tratamiento de infecciones orales producidas en las impresiones dentales, obteniendo como resultados reducción de la cantidad de microorganismos (2.2×10^6 a 0.05×10^6) a comparación del agua.

Del mismo modo, el estudio realizado por Bhardwaj A. (2017) evaluó la actividad antimicrobiana del extracto natural del noni, bajo la forma de un gel comparándolo contra clorhexidina al 2% en gel contra *Enterococcus faecalis*, los resultados mostraron una mayor eficacia contra esta bacteria en el gel de de *Morinda citrifolia* a la concentración de 86,02%. Por otro lado, Babaji P. (2017), evaluó el extracto de *Morinda citrifolia* L. *Enterococcus faecalis* obteniendo halos de inhibición e 14,7mm.

Los datos recolectados demostraron homogeneidad de varianzas y presentaron distribución normal, el análisis inferencial se realizó mediante la prueba de ANOVA y posteriormente mediante la prueba de Tukey, las

pruebas se realizaron con un nivel de significancia del 0,05 demostrando diferencia estadísticamente significativa en todos los grupos de datos analizados, en tal sentido, se demostró que el control positivo (clorhexidina 0.12%) presentó mayor actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

El análisis de la sensibilidad bacteriana mediante la escala de Duraffour determinó que *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presenta sensibilidad nula al control negativo empleado y es altamente sensible a los extractos de *Morinda citrifolia* L. (noni) a las concentraciones del estudio junto con el control positivo.

4.2. Conclusiones

1. En el extracto etanólico del fruto de *Morinda citrifolia* L. (Noni) se encontraron los metabolitos secundarios como taninos, alcaloides y saponinas que podrían presentar actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175
2. La actividad antibacteriana del extracto etanólico in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) al 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mostró halo de inhibición promedio de $19,68 \pm 0,36$ mm.
3. La actividad antibacteriana del extracto etanólico in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) al 75% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mostró halo de inhibición promedio de $15,59 \pm 0,30$ mm.
4. La actividad antibacteriana del extracto etanólico in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) al 50% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mostró halo de inhibición promedio de $14,45 \pm 0,38$ mm.
5. El extracto etanólico in vitro del fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni) presentó menor actividad antibacteriana que Clorhexidina al 0.12%. frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

4.3. Recomendaciones

- El empleo de diferentes solventes y técnicas extractivas puede ayudar a determinar la forma de extracción de mayor eficacia.
- Los resultados de la actividad antibacteriana del noni, varía según la bacteriana empleada y la forma extractiva de los metabolitos activos por lo tanto se recomienda realizar estudios teniendo estas variables en el estudio.
- Evaluar el uso de los extractos etanólico, tanto del fruto como de las hojas en el tratamiento de enfermedades o como complemento al tratamiento farmacológico.
- Se recomienda el empleo de los extractos de noni en la preparación de formulaciones farmacéuticas que demuestren eficacia in vitro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ONU. Se avecina una crisis desastrosa de enfermedades resistentes a los medicamentos [Internet]. Organización de las Naciones Unidas. 2019 [cited 2022 May 25]. Available from: <https://news.un.org/es/story/2019/04/1455011>
2. Palomer R. L. Caries dental en el niño. Una enfermedad contagiosa. Vol. 77, Revista Chilena de Pediatría. 2006. p. 56–60.
3. Organización Mundial de la Salud. Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo [Internet]. WHO. World Health Organization; 2018 [cited 2019 Sep 2]. Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>
4. Gonzales J. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio [Internet]. Revista Acta Medica Peruana. 2019 [cited 2019 Nov 18]. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1728-59172019000200011&script=sci_arttext
5. Revista Galapagos. Morinda citrifolia L. [Internet]. Fundación Charles Darwin. 2021. Available from: <https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/checklist?species=2126#taxonomy>
6. Almeida ÉS, de Oliveira D, Hotza D. Properties and Applications of Morinda citrifolia (Noni): A Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2022 May 5];18(4):883–909. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1541-4337.12456>
7. Chávez M, Eustaquio C. “Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de Morinda citrifolia L. “noni” y Cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales. Universidad Nacional de Trujillo; 2010.
8. Kaspar J, Lee K, Richard B, Walker A, Burne R. Direct interactions with commensal streptococci modify intercellular communication behaviors of Streptococcus mutans. ISME Journal [Internet]. 2021;15(2):473–88. Available from:

<https://www.nature.com/articles/s41396-020-00789-7.pdf>

9. Ojeda J, Oviedo E, Andrés L. Streptococcus mutans y caries dental. Revista CES Odontología [Internet]. 2016;26(1):1–13. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>
10. Shafath A, Charles P, Cholan R, Russia M, Surya R, Jailance L. Antibacterial efficacy and effect of Morinda citrifolia L. mixed with irreversible hydrocolloid for dental impressions: A randomized controlled trial. Pub Med [Internet]. 2016;2. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26538926/>
11. Bhardwaj A, Ballal S, Velmurugan N. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts of Morinda citrifolia, papain and aloe vera (all in gel formulation), 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide, against Enterococcus faecalis: An in vitro study. J Conserv Dent [Internet]. 2016 Jul;15(3):293–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22876022/>
12. Babaji P, Jagtap K, Lau, Bansal N, Thajuraj S, Sondhi P. Comparative evaluation of antimicrobial effect of herbal root canal irrigants (Morinda citrifolia, Azadirachta indica, Aloe vera) with sodium hypochlorite: An in vitro study. NIH - Pub Med [Internet]. 2016; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27382533/>
13. Altamirano L, Castro E, Cruz C, Carrasco F, Cruz R, Moreno M. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de Morinda citrifolia (noni) frente a cepas de Staphylococcus aureus. Medicina Naturista [Internet]. 2021;15(2):26–34. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7998125>
14. Díaz M. y Vidarte J. Sensibilidad del cultivo de Staphylococcus aureus frente a la acción antibacteriana de los extractos de Morinda citrifolia y Foeniculum vulgare [Internet]. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt; 2021. Available from: https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/446/TESIS_Diaz_Vidarte.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Oliva J. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO DE LA FRUTA MORINDA CITRIFOLIA “NONI” FRENTE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 35668 [Internet]. Universidad Señor de Sipan;

2019. Available from:
https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USSS_4b75a90485ab5774c5f8f531eb0dfb25/Details

16. Hernández R. Metodología de la Investigación: Las rutas de la investigación cuantitativa, cualitativa y mixta [Internet]. 1era edici. Mc Graw Hill. Mexico; 2018. 387–410 p. Available from: <https://virtual.cuautitlan.unam.mx/rudics/?p=2612>
17. Guevara G, Verdesoto A, Castro N. Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento [Internet]. 2020;4(3):163–73. Available from: <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/860/1363>
18. Hernández C. y Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Revista Científica del Instituto Nacional de Salud “Alerta.” 2019;2(1):75–9.
19. Otzen T, Manterola C. Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. International Journal of Morphology [Internet]. 2017;35(1):227–32. Available from: <https://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v35n1/art37.pdf>
20. Hernández C, Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Revista Científica del Instituto Nacional de Salud “Alerta” [Internet]. 2019;2(1):75–9. Available from: <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-de-muestreo/>

ANEXOS

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL FRUTO DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI) FRENTE A <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, IN VITRO.					
Número de placas	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL	
	100%	75%	50%	Clorhexidina 0.12%	Etanol 96°
Placa N°01	19,59	15,71	14,63	24,00	5,37
Placa N°02	19,29	15,43	14,74	24,75	5,68
Placa N°03	19,56	15,89	14,34	23,99	5,60
Placa N°04	19,68	15,97	14,44	23,80	6,24
Placa N°05	19,96	15,50	13,60	24,41	5,53
Placa N°06	19,30	15,06	14,56	23,58	6,63
Placa N°07	19,97	15,99	14,44	24,05	5,67
Placa N°08	19,74	15,52	14,10	23,83	6,01
Placa N°09	19,69	15,38	14,73	23,92	5,81
Placa N°10	20,04	15,46	14,96	23,67	6,46

Anexo 2. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Presentará actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Demostrar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175,	El extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> (noni) tiene actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuáles serán los metabolitos presentes en el extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni) con actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni) con actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Existen metabolitos secundarios en el extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni) con actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175
¿Cuál será la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI) al 100% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico in vitro del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) al 100% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	El extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) al 100% tiene actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.
¿Cuál será la actividad antibacteriana del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI) al 75% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro?	Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico in vitro del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) al 75% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	El extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) al 75% tiene actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.
¿Cuál será la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI) al 50% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico in vitro del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) al 50% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	El extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) al 50% tiene actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.
¿Cuál será la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI) comparado con Clorhexidina al 0,12% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico in vitro del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 con Clorhexidina al 0.12%.	La actividad antibacteriana del extracto etanólico del fruto <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 es mayor que Clorhexidina al 0.12%.

Anexo 3. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
<p>Variable independiente: Extracto etanólico del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni)</p>	Es un preparado extraído de la droga vegetal con etanol de 96° que presenta propiedades medicinales.	Extracción por maceración	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 75 50
<p>Variable dependiente: Actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	Inhibición o muerte del crecimiento celular bacteriano	Tamaño del halo inhibitorio	Halo de inhibición	Diámetro (mm)	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

Anexo 4. Certificado botánico

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como “NONI” proporcionada por los Bachilleres, **Carmen María Chumacero Santos** y **Any Fiorely Torres Hoyos**, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Morinda citrifolia* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Rubiales
Familia: Rubiaceae
Genero: *Morinda*
Especie: *Morinda citrifolia* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 01 junio del 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton W. Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C. No. 2719

Anexo 5. Certificado de *Streptococcus mutans* ATCC



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-28** Reference Number: ATCC® 25175™* Purity: Pure Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2022/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2020/10/24</p>
<p>Performance</p>	
<p>Macroscopic Features: Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the S3AP other is small, circular and translucent. Microscopic Features: Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and Gram Stain (1) predominately in chains</p>	<p>Medium: S3AP other is</p> <p>Method: (1) predominately in chains</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative</p> <p style="text-align: center;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE</p>
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p>	
<p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p>	
<p><small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p>	
<p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p>	
<p style="text-align: center;">  ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</p>	<p><small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small></p>
<p style="text-align: center;">  ACCREDITED TESTING CERT #2655.01</p>	<p><small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small></p>

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**Meaning of Score Values**

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Streptococcus mutans
 Sample Description: 0266
 Sample ID: 266-28
 Sample Creation Date/Time: 2018-10-19T10:55:23.331 CMC
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++) (A)	266-28	Streptococcus mutans	2.15

Comments:

N/A

Anexo 6. Carta de aceptación del propietario del terreno

CARTA DE ACEPTACIÓN

EL QUE SUSCRIBE

Hace constar

Que, CARMEN MARÍA CHUMACERO SANTOS y ANY FIORELY TORRES HOYOS, bachilleres en Farmacia y Bioquímica, se les ha brindado el acceso a mi terreno ubicado en departamento lambayeque, provincia chiclayo ,distrito chiclayo del cual soy propietario, para puedan recolectar muestras de la especie vegetal *Morinda citrifolia L. (NONI)*, las cuales serán utilizadas en su investigación titulada: “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL FRUTO DE *Morinda citrifolia L. (NONI)* FRENTE A *Streptococcus mutans ATCC 25175*”

CHICLAYO, 28 de mayo del 2022



Diomira Carlos Juárez

DNI:76860407

Anexo 7. Fotografías del trabajo de campo

Figura 2. Recolección de la planta



Figura 3. Selección, lavado y desinfección de la muestra



Figura 4. Preparación del macerado de la muestra vegetal



Figura 5. Preparación de los extractos de noni



Figura 6. Estudio fitoquímico

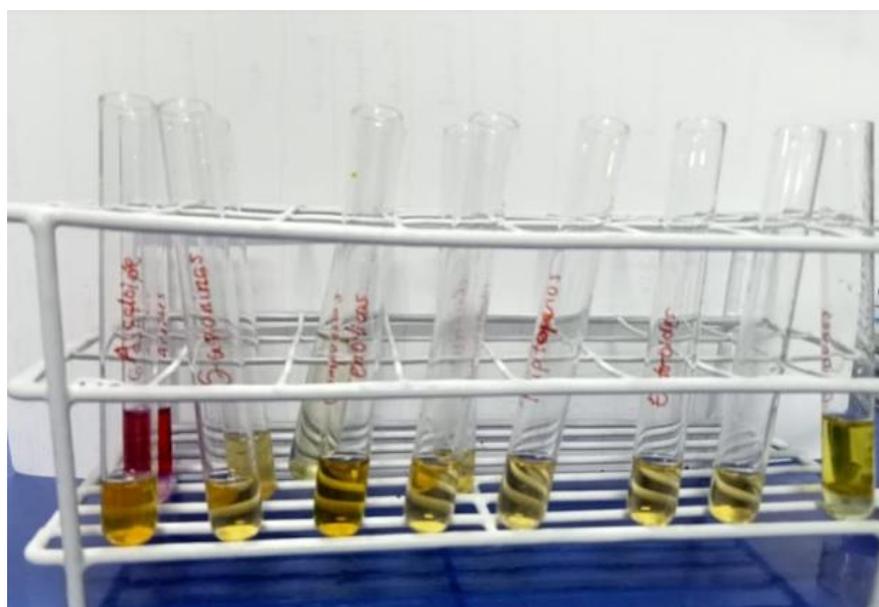


Figura: 7. Preparación del inóculo de trabajo



Figura 8. Acondicionamiento de los pozos en agar

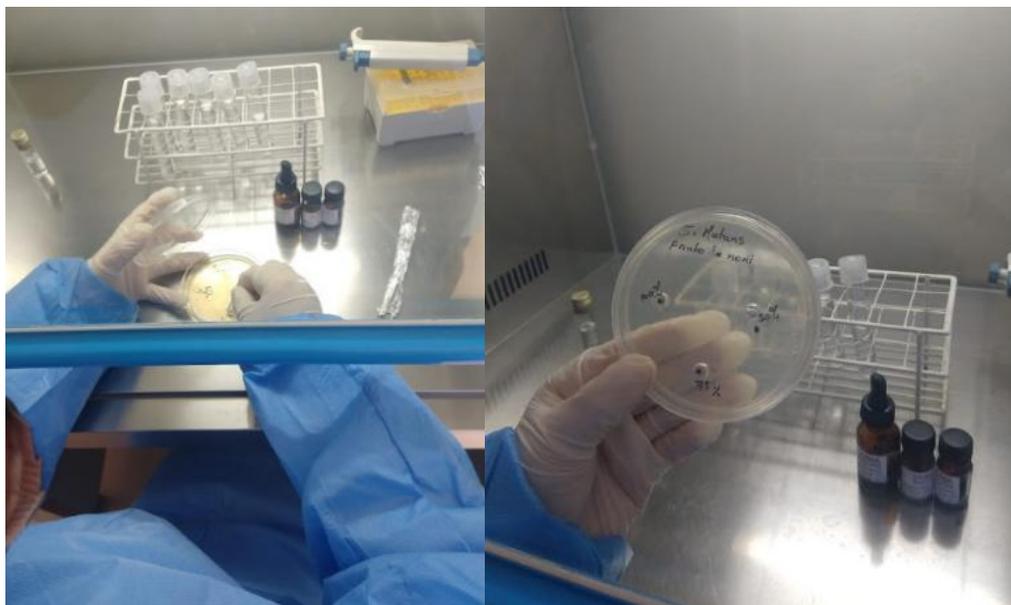


Figura 9. Incubación de Streptococcus mutans en condiciones anaeróbicas



Figura: 10. Medición de los halos de inhibición:

