

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

# EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE Morinda citrifolia L. (Noni) FRENTE A Streptococcus mutans ATCC 25175, IN VITRO

# TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

#### **AUTORES**

Bach. PALAY HERNANDEZ, PERLA LISSETH

https://orcid.org/0000-0001-9426-8064

Bach. PALOMINO HERNANDEZ, ANDERSON JOSE

https://orcid.org/0000-0002-4502-8539

**ASESOR** 

Mg. LA SERNA LA ROSA, PABLO ANTONIO

https://orcid.org/0000-0001-7065-012X

LIMA – PERÚ 2022

# AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Anderson José Palomino Hernández, con DNI 77710481, en mi condición de autor de la tesis presentada para optar el título profesional de QUIMICO FARMACEUTICO de título "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DELAS HOJAS DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, 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 JURAMENTO que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 22 % y que se han respetado los derechos de autor en laelaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final deldocumento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 15 días del mes de diciembre del año 2022.

(Nombre completo del autor) (DNI del autor) Mg. PABLO ANTONIO LA SERNA LA ROSA DNI: 06121495

- 1. Apellidos y Nombres
- 2. DN
- 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 № 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo № 084-2022-SUNEDU/CD.

# AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Perla Lisseth Palay Hernández, con DNI 76507772, en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el título profesional de QUIMICO FARMACEUTICO de título "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE *Morinda* 

citrifolia L. (NONI)", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorioinstitucional, bajo la modalidad de acceso abierto, 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 de 22 % y que se han respetado los derechos de autor en laelaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final deldocumento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los <u>15</u> días del mes de diciembre del año 2022.

PERLA LISSETH PALAY HERNANDEZ DNI:76507772 Mg. PABLO ANTONIO LA SERNA LA ROSA DNI: 06121495

- 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.

# **TESIS PALAY - PALOMINO**

22% 22%	4%	<b>7</b> %
INDICE DE SIMILITUD FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
FUENTES PRIMARIAS		
repositorio.uroosevelt.e	du.pe	11%
repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet		6%
repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	e	1,9
repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet		1,
docplayer.es Fuente de Internet		1,9
repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet		1,9
7 hdl.handle.net Fuente de Internet		1,9
tesis.ucsm.edu.pe		1,9
repositorio.usanpedro.e	edu.pe	1,
Excluir citas Activo  Excluir bibliografía Activo	Excluir coincidencias	s <1%

#### **DEDICATORIA**

Dedico con todo mi corazón mi tesis a mi Madre Luz Hernández Terrones, pues sin ella no lo había logrado. Tu bendición a diario a lo largo de mi vida me protege y me lleva por el camino del bien. Por eso te doy mi trabajo en ofrenda por tu paciencia y amor madre mía, te amo.

#### Perla Lisseth Palay Hernandez

A mí querida madre Delicia, por sus consejos, paciencia y apoyo incondicional. A mi padre que desde el cielo me ilumina para seguir adelante con mis proyectos, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este.

A mi hermana, amigos y compañeros por estar siempre a mi lado y apoyarme en todo momento para poder lograr mis objetivos.

Anderson José Palomino Hernández

#### **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a Dios por habernos otorgado una familia maravillosa, quienes han creído en nosotros siempre, dándonos ejemplo de superación, humildad y sacrificio; enseñándonos a valorar todo lo que tenemos. A todos ellos dedicamos el presente trabajo, porque han fomentado en nosotros, el deseo de superación y de triunfo en la vida. Lo que ha contribuido a la consecución de este logro. Espero contar siempre con su valioso e incondicional apoyo.

Los autores

# **ÍNDICE GENERAL**

Pág	inas
DEDICATORIA	V
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE GENERAL	/ii
ÍNDICE DE TABLASv	'iii
NDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	κii
ABSTRACTx	aiii
I. INTRODUCCIÓN	.1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	.6
II.1. Enfoque y diseño de la investigación	6 7 7 7 0
IV. DISCUSIÓN1	9
4.1. Discusión de resultados	21
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS2	:3
	7

# **ÍNDICE DE TABLAS**

# Páginas

Tabla 1. Solubilidad en solventes polares y no polares el extracto etanólico de las							
hojas		de		Morinda	)		citrifolia
(Noni)							11
Tabla 2. M	etabolito	s secundari	ios del e	xtracto etanólic	o de las h	ojas de <i>l</i>	Morinda
citrifolia L.(	Noni) co	n efecto ar	ntibacteria	ano frente a Sa	treptococcu	s mutans	s ATCC
25175,							in
vitro							12
Tabla 3. Efe	ecto antib	acteriano d	el extract	o etanólico de la	as hojas de	Morinda	citrifolia
L.(Noni) a la	as conce	ntraciones d	de 50%, 7	'5% y 100% fre	nte a <i>Strep</i>	tococcus	mutans
ATCC 2517	5, in vitro	o; en funciói	n del halo	de inhibición			13
Tabla 4. Pr	ueba de (	distribución	normal p	ara cada grupo	de tratamie	entos	15
Tabla	5.	Prueba	de	homogeneid	ad de	e va	arianzas
(Levene)							15
Tabla	6.	Aı	nálisis	de	la	V	/arianza
(ANOVA)							16
Tabla 7.	Análisis	por sub	grupos	homogéneos	mediante	la prue	eba de
Tukey							17
Tabla 8. Se	nsibilidad	d antibacteri	iana segί	in la escala de	Duraffourd.		18

# **ÍNDICE DE FIGURAS**

Páginas

Figura 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de Morinda citrifolia
L.(Noni) a las concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a Streptococcus mutans
ATCC 25175, in vitro; en función del halo de
nhibición
14
Figura 2. Lavado y desinfección de las hojas de
Noni
35
Figura 3. Secado a temperatura ambiente de las hojas de
Noni
36
Figura 4. Secado en estufa y triturado de las hojas de
Noni
36
Figura 5. Pulverización y macerado de las hojas de
Noni
37
Figura 6. Obtención del extracto
seco
38
Figura 7. Preparación de los extractos a las concentraciones de 50%, 75% y
100%
39
Figura 8. Pruebas de
solubilidad
40
Figura 9. Marcha
Fitoquímica
40
Figura 10. Activación de cepa de Streptococcus
mutane

41
Figura 11. Incubación de placas en medio
anaeróbico
42
Figura 12. Preparación del inóculo para sembrado en
placa
43
Figura 13. Rotulado de placas para inicio de
trabajo
43
Figura: 14. Medición de los halos de
inhibición
44

# **ÍNDICE DE ANEXOS**

	Páginas
Anexo A. Instrumento de recolección de datos	.28
Anexo B. Matriz de consistencia	.29
Anexo C. Operacionalización de las variables	.30
Anexo D. Carta de presentación	.31
Anexo E. Carta de aceptación	.32
Anexo F. Certificado de análisis de la cepa en estudio	.33
Anexo G. Certificado Botánico de la planta	.34
Anexo H. Evidencias fotográficas del trabajo de Campo	.35

#### **RESUMEN**

**Objetivo:** Demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.*(Noni) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *in vitro*.

**Metodología:** La investigación se basó en un modelo cuantitativo, transversal, experimental; la población fue la especie vegetal *Morinda citrifolia* L. (Noni) de la cual se obtuvo una muestra de 1 Kg, de hojas para obtener el extracto mediante la maceración, el efecto antibacteriano se evaluó mediante la técnica microbiológica de difusión en pozo, y el análisis estadístico se llevó a cabo con pruebas paramétricas como ANOVA y Tukey con una significancia estadística del 0.05.

Resultados: Los resultados de solubilidad del extracto: ser insoluble (-) a hexano, ser medianamente soluble (+) a metanol, acetona, cloroformo y dimetil-sulfoxido y soluble (++) al agua, etanol y alcohol terbutílico; con respecto a los metabolitos identificados fueron alcaloides en mediana cantidad (++), compuestos fenólicos, taninos, triterpenos, esteroides en baja cantidad (+); los halos de inhibición encontrados fueron de 24,66±0,45mm para el extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. al 100%, de 22,36±0,31mm para el extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. al 75% y de 20,10±0,41mm para el extracto etanólico de *Morinda citrifolia* L. al 50%, los grupos control obtuvieron halos de inhibición promedio de 6,17±0,31mm para el control negativo y de 32,45+0,32mm.

**Conclusión:** El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* L. (Noni) a las concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro mostro halos de inhibición: 24,66+0,45mm para el extracto al 100%, de 22,36+0,31mm para el extracto al 75% y de 20,10+0,41mm para el extracto al 50%.

**Palabras Clave:** *Morinda citrifolia* L., Noni, *Streptococcus mutans,* extracto etanólico, antibacteriano.

#### **ABSTRACT**

**Objective:** To demonstrate the antibacterial effect of the ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L.(Noni) leaves against *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

**Methodology:** The research was based on a quantitative, cross-sectional, experimental model; the population was the plant species *Morinda citrifolia* L. (Noni) from which a 1 kg sample of leaves was obtained to obtain the extract by maceration, the antibacterial effect was evaluated by the microbiological technique of diffusion in well, and the Statistical analysis was carried out with parametric tests such as ANOVA and Tukey with a statistical significance of 0.05.

**Results:** The solubility results of the extract: being insoluble (-) in hexane, being moderately soluble (+) in methanol, acetone, chloroform and dimethyl sulfoxide and soluble (++) in water, ethanol and tert-butyl alcohol; Regarding the metabolites identified, they were alkaloids in medium quantity (++), phenolic compounds, tannins, triterpenes, steroids in low quantity (+); the inhibition halos found were 24.66+0.45mm for the 100% ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L., 22.36+0.31mm for the 75% ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. and 20 0.10+0.41mm for the 50% ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L., the control groups obtained average inhibition halos of 6.17+0.31mm for the negative control and 32.45+0.32mm.

**Conclusion:** The antibacterial effect of the ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. (Noni) leaves at concentrations of 50%, 75% and 100% against *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro showed inhibition halos: 24.66+ 0.45mm for the 100% extract, 22.36+0.31mm for the 75% extract and 20.10+0.41mm for the 50% extract.

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

# I. INTRODUCCIÓN

Dentro del organismo humano existen varias bacterias que conforman parte de la microbiota, pero en algunas ocasiones por diversos factores estas se convierten en bacterias patógenas, produciendo enfermedades muy graves, que están ligadas en su mayoría con la resistencia a los fármacos antibacterianos, asimismo, *Streptococcus mutans*, es considerado un microorganismo virulento y con capacidad de resistencia, la cual ingresa generalmente por un herida abierta o las vías respiratorias; este microorganismo puede refugiarse tanto en las células epiteliales, endoteliales e incluso en los macrófagos, desarrollando una infección<sup>1,2</sup>.

Organismos internacionales como la organización Mundial de la Salud (2018) informaron en referencia a la crisis de bacterias resistentes que, se ha convertido en una amenaza, sin distinguir el nivel económico de los países, ya que los datos indican los mismos porcentajes, de las cuales bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* son las más encontradas al momento de realizar un antibiograma. Por ejemplo, en Europa la resistencia de *Staphylococcus aureus* a la Amoxicilina fluctúa entre 0.3 a 80% y en el continente americano la resistencia varia de 2.4% a 90%<sup>3</sup>.

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<sup>4</sup>.

En el Perú existen investigaciones donde se ha demostrado que la resistencia microbiana muchas veces se ocasiona por un consumo irresponsable de estos fármacos por la población humana y también por el uso descontrolado de estos antibióticos en los animales de consumo humano. Ante este escenario nuestro país mediante el organismo de "La Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas" vienen desarrollando estrategias de salud en las poblaciones con la finalidad de controlar la venta de dichos farmacos<sup>5</sup>.

El marco teórico de nuestro estudio describirá a *Morinda citrifolia*, conocido popularmente como Noni, es un pequeño árbol o arbusto frutal tropical y subtropical

que ha sido utilizado por sus propiedades medicinales; pertenece a la familia *Rubiaceae*. Su área de distribución nativa se extiende por las islas del Pacífico, el sudeste asiático, Australasia y la India. Parece haber sido muy valorado terapéuticamente en las regiones tropicales, y la planta normalmente se propaga por su sistema de raíces, hojas y materia orgánica. Las raíces de estas plantas son una excelente fuente de antraquinonas, que normalmente se encuentran como agliconas y, en menor medida, como glucósidos. Todos los componentes del árbol han sido ampliamente utilizados como servicios medicinales para el alivio de la artritis y otros dolores, y por sus propiedades curativas.<sup>6</sup>

El Noni, viene siendo utilizado por fabricas para adicionar a sus productos un sabor agradable, mejorado y nutritivo. Esta planta se ha utilizado con fines medicinales durante más de 2000 a 3000 años, se encuentra entre las plantas medicinales a base de hierbas más populares que se utilizan para tratar muchos problemas relacionados con la salud, como malignidad, resfriado común, diabetes mellitus, influenza, presión arterial alta, dolor, úlceras gástricas, cólicos menstruales, etc. También tiene una amplia gama de afirmaciones terapéuticas, que incluyen antibióticos. antivirales. antibacterianos, antimicóticos, antiinflamatorios, antihelmínticos, antitumorales, analgésicos, el efecto hipotensor y potenciador del sistema inmunológico, además, no solo el fruto tiene dichas propiedades, sino toda la planta, que destaca por sus compuestos químicos llamados fitonutrientes y aportan beneficios para la salud<sup>7</sup>

Se han identificado aproximadamente 200 metabolitos secundarios en esta planta, de los cuales 120 presentan propiedades medicinales demostradas, estos principios los podemos encontrar en todas las partes de la planta tanto hojas como frutos, según estudios realizados. Los compuestos que se han identificados son, componentes no volátiles y volátiles, polisacáridos, flavonoides, fitoesteroles, carotenoides, vitamina A, antraquinonas, potasio, magnesio, sodio, zinc, manganeso, selenio cetonas, lactonas, betacarotenoides, terpenoides, proxeronina. Se han aislado además 96 compuestos volátiles entre ellos cetonas, ésteres, alcoholes, terpenos en la fruta de Noni, las flores contienen iridoides y flavonoides como principios más saltantes. Entre los compuestos fenólicos podemos encontrar el damnacantal, escopoletina, morindina, morindona, alizarina, aucubina, nordamnacantal, rubiadina, rubiadin-1-metil éter y glucósidos de antraquinonas. Los extractos etanólicos y acuosos han presentado esteroides, glucósidos cardiotónicos, fenoles, taninos, terpenos, alcaloides, carbohidratos, flavonoides, azucares reductores, lípidos y grasas, las saponinas<sup>8</sup>.

Por otro lado, *Streptococcus mutans* es una bacteria grampositiva que pertenece 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. Fermenta glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. Se le considera una bacteria cariogénica por lo que está relacionada a la formación de caries dental. Su hábitat natural es la superficie dental, donde sintetiza glucanos y fija compuestos ácidos que desmineralizan a los dientes produciendo las caries<sup>9</sup>.

El efecto antibacteriano es una propiedad o característica de ciertas sustancias o componentes utilizadas para matar o inhibir el crecimiento de las bacterias como lo es *Streptococcus mutans*, evitando que se multipliquen y por consiguiente que no causen una enfermedad, existen métodos utilizados para evaluar dicho efecto antibacteriano y son clasificados de manera general en métodos de difusión y métodos de dilución<sup>10</sup>.

Las pruebas de difusión de disco o en pozo de agar desarrolladas en 1940 son el método oficial utilizado en muchos laboratorios de microbiología clínica para las pruebas rutinarias de susceptibilidad antimicrobiana, hoy en día, muchos estándares aceptados y aprobados son publicados por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) para pruebas de bacterias y levaduras; aunque no todas las bacterias pueden ser probadas con precisión por este método, la estandarización se ha hecho para probar ciertos patógenos bacterianos como estreptococos, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Neiseria gonorrhoeae y Neisseria meningitidis*, utilizando medios de cultivo específicos, así como, diversas condiciones de incubación y criterios interpretativos para las zonas de inhibición, este procedimiento es bien conocido, las placas de agar se inoculan con un inóculo estandarizado del microorganismo de prueba y a continuación, se colocan discos o el extracto (de unos 6 mm de diámetro), que contienen el compuesto de ensayo a la concentración deseada, sobre la superficie del agar. Las placas de Petri se incuban en condiciones adecuadas, generalmente, el agente

antimicrobiano se difunde en el agar e inhibe la germinación y el crecimiento del microorganismo de ensayo, a continuación, se miden los diámetros de las zonas de inhibición de crecimiento<sup>11</sup>.

Los antecedentes internacionales que respaldan nuestra investigación citan a: **Ahmed A.**, en el 2017, determinaron la eficacia antibacteriana y efecto de *Morinda citrifolia L.* en combinación con un biopolímero de uso en moldes dentales. Después de dos días de exposición el extracto de *M. citrifolia L.* junto con el biopolímero redujo la concentración de unidades formadoras de colonias en comparación con el agua (2.2x10<sup>6</sup> a 0.05x10<sup>6</sup>)<sup>12</sup>

**Bhardwaj A.**, el año 2017, en su estudio cuyo objetivo fue ejecutar una evaluación comparativa de la actividad antibacteriana de los extractos naturales de *Morinda citrifolia*, papaína y aloe vera (todos en formulación en gel), clorhexidina al 2% e hidróxido de calcio (cal hidratada), contra la cepa *Enterococcus faecalis*. De acuerdo, con el resultado el porcentaje global de inhibición bacteriana (200 y 400μm de profundidad) fue del 100% con el gel de clorhexidina, le siguió el gel de *M. citrifolia L.*con 86% mostrando un mejor efecto antimicrobiano en comparación con el gel de sábila (79%), el gel de papaína (67%) y la cal hidratada (64%)<sup>13</sup>

**Babaji P.**, el 2017, en su investigación cuyo objeto consistió en evaluar y comparar el efecto inhibitorio de un irrigante radicular elaborado con plantas como *Morinda citrifolia, A. indica, Aloe vera* más el hipoclorito sódico contra *E. faecalis*. Se logró evidenciar que las muestras del irrigante radicular con hipoclorito de sodio tuvo mayor inhibición sobre *E. faecalis* y formó un halo de 28.6mm, sin embargo, el irrigante radicular elaborado con las hierbas mencionadas también produjo inhibición bacteriana, pero a menor porcentaje con un halo de 14.7mm<sup>14</sup>

Por su parte, los estudios nacionales que sustentan también, la presente investigación se cita a continuación: **Altamirano L. y col.**, el año 2021, determinaron el efecto de inhibición de un extracto con etanol a base de *Morinda citrifolia L.*sobre *Staphylococcus aureus*. El extracto del Noni formó una zona inhibitoria de 16.22mm después de 24 horas de haber sido expuesto a la bacteria, asimismo, se comprobó que este efecto aumenta a medida que la concentración del extracto es mayor<sup>15</sup>

Díaz M. y col., el 2021, en su estudio con el objetivo de comprobar la susceptibilidad

en una población de *Staphylococcus aureus* al ser expuestos a los extractos naturales formulados con *Morinda citrifolia L.y Foeniculum vulgare*. El extracto del Noni formó una medida inhibitoria aproximadamente de 17mm en una concentración del 50% y de 23mm en la concentración de100% y el hinojo a la concentración del 50 y 100% formo zonas de inhibición de 16.61mm y 18.07mm, demostrándose que el efecto del Noni es mayor sobre la población bacteriana trabajada<sup>16</sup>.

**Oliva J.**, en el 2019, determinó in vitro el efecto antibacteriano de un extracto a base de *Morinda citrifolia L.*en solvente de agua y alcohol, sobre *Streptococcus mutans.* Los extractos que formaron zonas de inhibición frente a la bacteria fueron al 50 y 75% con una medida de 21mm y 23.5mm respectivamente, demostrándose la eficacia del extracto de Noni sobre *Streptococcus mutans*<sup>17</sup>

Por lo tanto, se propone como objetivo general, demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.*(Noni) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *in vitro*.

Se plantea además como hipótesis principal: el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.*(Noni) tiene efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

### II. MATERIALES Y MÉTODOS

#### II.1. Enfoque y diseño de la investigación

- Cuantitativo: Debido a que se empleó herramientas estadísticas basadas en el análisis de valores numéricos obtenidos de las variables en estudio para predecir el comportamiento de las variables o su relación.
- Transversal: Porque la recolección de los datos relacionados al fenómeno observado fue realizada en un solo periodo de tiempo.
- Experimental: Porqué se basó en un tipo de investigación donde existió grupos control y las variables fueron manipuladas por los investigadores deliberadamente, observando los fenómenos resultantes de la interacción de las variables<sup>18,19</sup>.

#### II.2. Población, muestra y muestreo

#### Población:

Se consideró como población total 4 kilogramos de las hojas de *Morinda citrifolia L.*(Noni) las mismas que fueron recolectadas en las zonas agrícolas del distrito de Pátapo, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque ubicado en las coordenadas geográficas 6.7241° de latitud Sur y a una longitud Oeste de 79.5774°.

La determinación taxonómica de la especie se realizó con el apoyo de un profesional con experiencia en identificación botánica.

**Muestra:** Obtenida de la población mencionada y después de aplicar los criterios de selección se tomó 1 kilogramo de las hojas.

#### Criterio de inclusión:

Las hojas seleccionadas presentaron características similares en cuanto al peso, color y tamaño.

#### Criterio de exclusión:

Las hojas de diferente especie vegetal, o recolectadas en distinta ubicación geográfica, con signos de contaminación y/o deterioro.

**Muestreo:** Corresponde al tipo no probabilístico por conveniencia<sup>20</sup>.

#### II.3. Variables de investigación

Variable independiente: extracto etanólico de las hojas de Morinda citrifolia L.(Noni).

- Definición conceptual: Producto seco que presenta los principios activos de la especie vegetal empleada.
- **Definición operacional**: Maceración en etanol.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano frente a Streptococcus mutans ATCC 25175.

- Definición conceptual. Disminución o muerte de la bacteria
- **Definición operacional**. Medida del tamaño de la zona de inhibición.

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

Ficha de recolección de datos para la identificación fitoquímica:

 Se hizo uso de una ficha de recolección de datos donde se registraron los resultados recolectados de la marcha fitoquímica, la que se realizó mediante pruebas cualitativas con reacciones de coloración y/o precipitado, empleando diferentes tipos de reactivos para determinar las clases de metabolitos.

# Ficha de recolección de datos para la determinación del efecto antibacteriano:

 Se empleó una ficha de recolección de datos donde fueron consignados los valores de 50%, 75% y 100% en columnas separadas, además de los grupos control (negativo y positivo), se registraron 15 datos para cada intervención donde se anotaron el tamaño en milímetros de halos formados según la concentración de cada extracto.

#### II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

#### II.5.1 Elaboración del extracto

Los 1000 gramos seleccionados de las hojas de *Morinda citrifolia L.*(Noni) previo lavado con agua destilada y desinfectadas con hipoclorito sódico al 0.5% fueron llevadas a estufa y colocadas a una temperatura de 45º para su deshidratación y secado completi, luego se agregó etanol al 96% hasta obtener una consistencia homogénea, se realizó el mismo procedimiento hasta agotar toda la cantidad de muestra, luego se llevó a macerar en un

frasco con capacidad de 4 litros y color oscuro (ámbar); luego se dejó reposar por 10 días entre 20°C a 25°C, asimismo, se agitó cada 12 horas para homogenizar la muestra y posteriormente fue filtrada y llevada a estufa para evaporar el etanol.

El extracto obtenido se preparó considerando la concentración del 100% y a partir de este se preparó 5 ml de las concentraciones al 75% y 50% por medio de diluciones.

#### II.5.2 Marcha fitoquímica

Para el desarrollo de la marcha fitoquímica, se elaboró para determinar los metabolitos secundarios presentes en la muestra, los cuales se realizaron de la siguiente manera:

**Alcaloides:** Se utilizó la reacción de Dragendorff donde en un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto y seguidamente se adicionaron 1 ml de ácido clorhídrico en concentración del 1%, se sometió a calor directo por 2 minutos y luego se enfrió y agregó 3 gotas del reactivo de Dragendorff. Un precipitado naranja ladrillo indica una reacción positiva.

Taninos y compuestos fenólicos: Se colocaron 2 ml del extracto etanólico, se le agregó 3 gotas del reactivo de cloruro férrico. La coloración rojo-vino evidencia la existencia de compuestos fenólicos, un color verde intenso demuestra la existencia de taninos pirocatecólicos, un color azul evidencia la existencia de taninos pirogaláctonicos.

**Saponinas:** Se adicionó 1 ml del extracto y también 10 ml de agua destilada, se agitaron por 2 minutos, luego del cual se debe observar la presencia de espuma con 2 mm a más por más de 2 minutos, lo que indicaría la presencia de saponina.

**Flavonoides:** Se colocaron 1 ml de la muestra en un tubo de ensayo y luego se agregó 1 ml de HCl cc, se sometió a calor directo por 10 minutos, luego se dejó enfriar y se agregó 1 ml de agua destilada y 2 ml de alcoholo amílico, la aparición de un color rojo a marrón en la fase amílica indica la presencia de flavonoides.

**Mucilago:** Una alícuota de 2ml del extracto se llevó a una temperatura de 0 a 5°C por un tiempo de 10 minutos, luego de los cuales se retiraron y observaron la presencia de una consistencia gelatinosa, que indicará la

presencia de mucilago.

Triterpenos y Esteroides: Se emplearon el método de Liebermann-Burchard, a una alícuota de 1 ml del extracto se agregó 0.5 ml de ácido acético glacial y luego 5 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado por la pared del tubo de ensayo sin agitar, la formación rápidamente de un color rosado-rojo que cambia azul o azul verdoso luego indica la presencia de estructuras esteroidales, la formación de un color rosado-rojo que cambia a verde intenso o verde oscuro indica la presencia de estructuras esteroidales.

#### II.5.4 Efecto antibacteriano

La actividad antibacteriana fue determinada por el método de difusión en pozo, sin embargo, previo a ello la unidad de análisis (*Streptococcus mutans*) sé adquirió del laboratorio Microbiologics. Después, se activaron la cepa por disolución y a su vez 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 inoculo 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 inoculo obtenido de *Streptococcus mutans* se sembraron en 15 placas Petri con agar Mueller Hinton (medio estándar) y se realizaron pocitos de 6mm con un sacabocados para poder introducir los 30µL del extracto etanólico de las hojas 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 15 placas con *Streptococcus mutans* y con dos pocitos donde se aplicará 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 en milímetros (mm), toda esta información se plasmó en la ficha de datos del estudio microbiológico.

La medida (mm) del halo inhibitorio estuvo relacionada con la actividad antibacteriana del extracto etanólico, in vitro.

#### II.6. Procesamiento del análisis estadístico

La información recogida fue ingresada en un cuadro de Excel para obtener los valores promedio y límites de confianza, así mismo, se exportó esta base al programa estadístico SPSS versión 26 para determinar si cumple con la estadística paramétrica y posteriormente se realizó la prueba de ANOVA y Tukey para confirmar la hipótesis del estudio con un nivel de confianza del 95%<sup>21</sup>.

#### II.7. Aspectos éticos

Los procedimientos establecidos en el presente estudio no requirieron el uso de animales o personas, pero si se instauraron procedimientos microbiológicos, por tal razón, se tuvo en cuenta los principios de bioseguridad y manejo de material biocontaminado para no afectar a otras personas ni el medio ambiente, así mismo, los autores sometieron el presente trabajo a la evaluación del programa Turnitin para determinar la originalidad del trabajo, así mismo, fueron los únicos responsables por la veracidad del contenido presentado, todos los antecedentes y referencias tomadas para el desarrollo de la investigación han sido correctamente citadas para no usurpar el trabajo realizado por otros investigadores<sup>22,23</sup>.

#### III. RESULTADOS

Tabla 1. Solubilidad en solventes polares y no polares el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* (Noni)

Tubo	Solvente empleado	Solubilidad en el solvente
1	Agua	++
2	Metanol	+
3	Etanol	++
4	Alcohol terbutílico	++
5	Acetona	+
6	Hexano	-
7	Cloroformo	+
8	Dimetilsulfóxido	+

#### Leyenda:

insoluble (-)
Medianamente Soluble (+)
Soluble (++)
Totalmente soluble (+++)

**Tabla 1,** se puede analizar la solubilidad que presenta el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* (Noni) frente a diferentes solventes tanto polares como no polares, mostrando ser insoluble (-) a hexano, ser medianamente soluble (+) a metanol, acetona, cloroformo y dimetil-sulfoxido y soluble (++) al agua, etanol y alcohol terbutílico, esta característica muestra afinidad por solventes polares y medianamente polares.

Tabla 2. Metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.*(Noni) con efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

Prueba	Identificación	Color / Precipitado	Intensidad
Dragendor	Alcaloides	Pp rojo ladrillo	++
Saponinas	Saponina	Saponina Espuma	
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos Taninos	Verde azulado	+
Antocianidina	Flavonoides	amarillo	-
Mucilagos	Mucilagos	Aspecto gelatinoso	-
Liebermann - Burchard	Triterpenos y esteroides	Anillo verde-azulado	+
Bortanger	Quinonas	rojo	-
Sudán III	Aceite y grasas	Rojo	-

#### Leyenda:

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

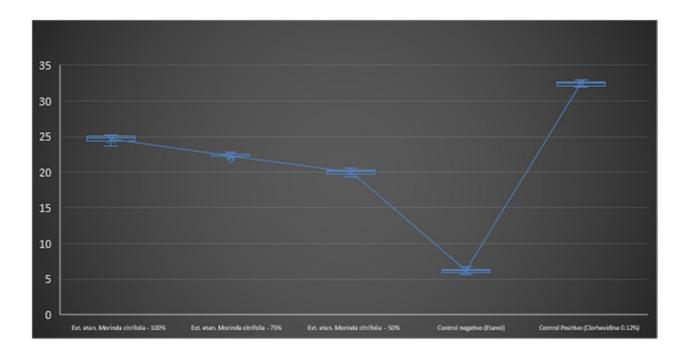
**Tabla 2,** Se observa la marcha fitoquímica, donde se aprecia los metabolitos secundarios identificados mediante pruebas de reacciones químicas con grupos funcionales de los metabolitos, se encontró mediante esta prueba, presencia de alcaloides en mediana cantidad (++), compuestos fenólicos, taninos, triterpenos, esteroides en baja cantidad (+) y ausencia de saponinas, flavonoides, mucilagos, quinonas y aceite / grasas (-)

Tabla 3. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.*(Noni) a las concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro; en función del halo de inhibición.

		n:	ámotro dol	halo de inhib	ición			
		Di	ametro dei			ralo de confianza		
					para	a la media		
			Desviación	L	.ímite			
	N	Media	estándar	Error estándai S	Superior	Límite Inferior	Mínimo	Máximo
Ext. etan. Morinda citrifolia L 100%	1(	24,6€	0,45	0,14	24,33	24,98	23,74	25,2
Ext. etan. Morinda citrifolia L 75%	1(	22,3€	0,31	0,10	22,14	22,57	21,68	22,8
Ext. etan. Morinda citrifolia L 50%	1(	20,10	0,41	0,13	19,80	20,39	19,3€	20,6
Control negativo (Etanol)	1(	6,17	0,31	0,10	5,95	6,39	5,66	6,6
Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)	10	32,45	0,32	0,10	32,22	32,67	31,99	32,98

**Tabla 3**, se realiza el análisis del efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.*(Noni) a las concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro; lo que se demuestra en función del halo de inhibición, según los datos recolectados, donde se obtuvo el valor promedio de las 10 mediciones de los halos de inhibición de cada grupo, así mismo, se observa los parámetros estadísticos obtenidos de estos datos, como la desviación estándar, error estándar, intervalos de confianza con respecto a la media y los valores máximo y mínimo registrados en el momento de la recolección de datos. Los valores que presenta los halos de inhibición fueron de 24,66±0,45mm para el extracto etanólico de *Morinda citrifolia L.* al 100%, de 22,36±0,31mm para el extracto etanólico de *Morinda citrifolia L.* al 75% y de 20,10±0,41mm para el extracto etanólico de *Morinda citrifolia L.* al 50%, los grupos control obtuvieron halos de inhibición promedio de 6,17±0,31mm para el control negativo y de 32,45±0,32mm para el control positivo.

Figura 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Morinda* citrifolia L.(Noni) a las concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro; en función del halo de inhibición



**Figura 1**, se puede observar el comportamiento del efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.* (Noni) y de los grupos control en función del tamaño del halo de inhibición, se observa un evidente efecto antibacteriano al comparar los extractos con respecto al control negativo y un efecto menor al comparar los extractos con el control positivo.

#### Evaluación de la estadística paramétrica:

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

		-	Shapiro-Wilk		
		Grupos de trabajo	Estadístico	df	Sig.
Diámetro del halcExt. etan. Morinda citrifolia		0,949	10	0,653	
de	inhibició	L 100%			
(mm)		Ext. etan. Morinda citrifolia	0,926	10	0,413
		L 75%			
		Ext. etan. Morinda citrifolia	0,950	10	0,668
		L 50%			
		Control negativo (Etanol)	0,943	10	0,584
		Control Positivo	0,969	10	0,881
		(Clorhexidina 0.12%)			

**Tabla 4,** Mediante la prueba de Shapiro – Wilk, se demuestra la distribución normal de todos los datos recolectados, el valor de significancia obtenido por cada grupo de trabajo con respecto al tamaño del halo de inhibición, muestran valores superiores al 0.05, en tal sentido, se demuestra la distribución normal de los datos recolectados para cada grupo.

Tabla 5. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

			Estadístico de				
			Levene		df1	df2	p-valor
Diámetro	del	Basado en la media		0,717	4	45	0,585
halo inhibición	de	Basado en la mediana		0,597	4	45	0,667
	uo	Basado en la mediana con ajuste de df		0,597	4	40,26	0,667
		Basado en la media recortada		0,656	4	45	0,626

**Tabla 5**, la prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas que se muestra en la tabla 5, permite determinar por medio del análisis de la media de cada grupo, si las varianzas entre estos son homogéneas, para el caso, se muestra un p-valor, basado en la media, superior al valor de significancia aceptando por el estudio, por lo tanto, se confirma que existe homogeneidad de las varianzas de los grupos de datos estudiados.

Efecto antibacteriano comparado del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.* (Noni) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro con Clorhexidina al 0.12%.

#### CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

**H**<sub>0</sub>: No presentará mayor efecto antibacteriano el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* (Noni) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro comparado con Clorhexidina al 0,12%

**H**<sub>1</sub>: Presentará mayor efecto antibacteriano el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* (Noni) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro comparado con 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	3668,62	4,00	917,16	6855,96	0,00
Dentro de los grupos	6,02	45,00	0,13		
Total	3674,64	49,00			

**Tabla 6**, se compara los valores de las medias de los grupos de datos mediante la prueba de ANOVA, esto permite determinar si los grupos poseen características similares con respecto al tamaño del halo de inhibición encontrados, en el presente caso se observa que el p-valor es inferior al nivel de significancia del estudio, por lo tanto, existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los grupos de datos, lo que confirma que los efectos antibacterianos que poseen los grupos son diferentes.

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

#### Diámetro de inhibición

HSD Tukey <sup>a</sup>	1					
Grupos de trabajo	Ν	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control negativo (Etanol)	10	6,17				
Ext. etan. Morinda citrifolia L 50%	10		20,10			
Ext. etan. Morinda citrifolia L 75%	10			22,36		
Ext. etan. Morinda citrifolia L 100%	10				24,66	
Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)	10					32,45
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

#### Análisis:

**Tabla 7,** la prueba de Tukey a comparación de la prueba de ANOVA, permite comparar los grupos de datos con respecto a su media, y determinar cuál de ellos presenta mayor o efecto, según la ubicación en columnas, correspondiente al mayor efecto a los valores ubicados en la columna de mayor numeración, por consiguiente, el efecto negativo solo se muestra en el grupo control negativo, lo que demuestra el efecto antibacteriano de los demás grupos de estudio, además se puede apreciar que la clorhexidina al 0.12% (control positivo) presenta mayor efecto antibacteriano que los extractos.

#### Por lo tanto:

Se rechaza la hipótesis alterna (H<sub>1</sub>) y acepta la hipótesis nula (H<sub>0</sub>) que confirma que el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia* (Noni) presentará mayor efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro comparado con Clorhexidina al 0,12%

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

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
Control negativo (Etanol)	6,17			
Ext. etan. Morinda citrifolia L 50%				20,10
Ext. etan. Morinda citrifolia L 75%				22,36
Ext. etan. Morinda citrifolia L 100%				24,66
Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)				32,44

**Tabla 8,** La escala de Duraffourd mostrada en la tabla, permite determinar de similar manera la sensibilidad antibacteriana de *Estreptococcus mutans* contra los grupos de estudio, de esta manera, se puede observar que esta bacteria presenta sensibilidad nula al control negativo (etanol) y es altamente sensible a los extractos etanólicos de hojas de *Morinda citrifolia L.* (Noni) y al control positivo (clorhexidina).

## IV. DISCUSIÓN

#### 4.1. Discusión de resultados

Numerosos estudios tienen como objetivo la búsqueda de nuevas fuentes para combatir la resistencia bacteriana y ayudar en el tratamiento de distintas patologías producidas por estos, en ese sentido, la investigación sobre las propiedades de las plantas medicinales se ha convertido en un gran aliado para alcanzar estos objetivos, en tal sentido, la presente investigación se suma en esta búsqueda y muestra sus resultados los cuales pone en análisis con los de otros autores con respecto al efecto antibacteriano encontrado en el extracto etanólico de las hojas de Noni contra Estreptococcus mutans.

Con respecto a las características de solubilidad frente a diferentes solventes polares y no polares encontrados en el extracto de las hojas de Noni, se evidenció que los extractos resultan ser insoluble (-) a hexano, ser medianamente soluble (+) a metanol, acetona, cloroformo y dimetil-sulfoxido y soluble (++) al agua, etanol y alcohol terbutílico. Estas particularidades de los extractos frente a los solventes muestran las características estructurales de los diferentes metabolitos contenidos en el extracto etanólio de Noni.

Los metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.* (Noni) que pueden poseer efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* fueron alcaloides en mediana cantidad (++) y compuestos fenólicos, taninos, triterpenos, esteroides en baja (+); la presencia de uno o varios de estos metabolitos puede demostrar la acción antibacteriana que se busca, puesto que muchos de estos metabolitos presentan características que inhibe el crecimiento bacteriano en menor o menor medida.

Por otro lado, al evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Morinda citrifolia L.* (Noni) a las concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, mediante el estudio

in vitro, se obtuvieron halos de inhibición promedio de 20,10±0,41mm para el extracto etanólico de Morinda citrifolia L. al 50%, de 22,36+0,31mm para el extracto etanólico de *Morinda citrifolia L.* al 75% y de 24,66±0,45mm para el extracto etanólico de Morinda citrifolia L. al 100%, los grupos control obtuvieron halos de inhibición promedio de 6,17+0,31mm para el control negativo y de 32,45+0,32mm para el control positivo, al comparar con el estudio de Altamirano L. y col. (2021), de manera similar se confirmó la actividad antibacteriana que presenta el extracto de Noni frente a Staphylococcus aureus, observando un halo de inhibición de 16,22 mm y con un efecto creciente según la concentración del extracto; del mismo modo, Díaz y col. (2021), expusieron los extractos naturales de Morinda citrifolia L. y Foeniculum vulgare a cepas de Staphylococcus aureus encontrando efecto inhibitorio contra esta cepa mediante la formación de halos de inhibición de 17mm a una concentración del 50% y de 23mm a la concentración del 100%; ambos estudios se muestran congruentes en sus resultados y confirman el efecto antibacteriano de Noni frente a Staphylococcus aureus. Por otro lado, el estudio realizado por Oliva (2019), también mostro efecto antibacteriano contra Streptococcus mutans, con halos de inhibición de 21mm y 23.5mm para el 50% y 75% respectivamente, resultados que se aproximan a los encontrados en nuestro estudio por ser investigados sobre la misma bacteria.

Otros estudios como el de Ahmed A. (2017), aplicaron los extractos de *Morinda citrifolia L.* con biopolímeros en moldes dentales para determinar la eficacia antibacteriana en esta preparación, encontrando disminución de la concentración de unidades formadoras de colonias (0.05x10<sup>6</sup>) en comparación con el agua (2.2x10<sup>6</sup>); así mismo, Bhardwaj A. (2017), demostraron la actividad antibacteriana de los extractos naturales de *Morinda citrifolia*, papaína y aloe vera, todas preparadas en formulación en gel, demostrando el gel de *Morinda citrifolia L.* obtuvo mayor efecto antimicrobiano comparado con los otros geles, pero inferior al efecto de la clorhexidina, del mismo modo, Babaji P. (2017), preparó un irritante radicular con *Morinda citrifolia*, *A. indica*, *Aloe vera* encontrando inhibición contra *E. faecalis*.

Al comparar el efecto antibacteriano de los extractos frente al grupo control positivo empleado mediante el análisis estadístico empleando la prueba de ANOVA y Tukey con un nivel de confianza del 95%, se demostró que el efecto antibacteriano observado de los extractos es menor que el de la clorhexidina al 0.12%, este efecto también fue valorado mediante la escala de Duraffourd en función de la sensibilidad de la bacteria, encontrando que esta resulto presentar sensibilidad nula al control negativo y es altamente sensible a los extractos en todas las concentraciones de estudio, así como al grupo control positivo.

#### 4.2. Conclusión

- El extracto etanólico de las hojas de Morinda citrifolia (Noni) presentó solubilidad en solventes polares y no polares, siendo medianamente soluble (+) a metanol, acetona, cloroformo y dimetil-sulfoxido y soluble (++) al agua, etanol y alcohol terbutílico,
- Los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de Morinda citrifolia L. (Noni) con posible efecto antibacteriano frente a Streptococcus mutans ATCC 25175, in vitro encontrados fueron alcaloides en mediana cantidad (++), compuestos fenólicos, taninos, triterpenos, esteroides en baja (+).
- El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de Morinda citrifolia L. (Noni) a las concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a Streptococcus mutans ATCC 25175, in vitro mostro halos de inhibición de 24,66±0,45mm para el extracto etanólico de Morinda citrifolia L. al 100%, de 22,36±0,31mm para el extracto etanólico de Morinda citrifolia L. al 75% y de 20,10±0,41mm para el extracto etanólico de Morinda citrifolia L. al 50%
- Al comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de Morinda citrifolia L. (Noni) frente a Streptococcus mutans ATCC 25175, in vitro con Clorhexidina al 0.12%, se observó que este último presenta mayor efecto antibacteriano.

#### 4.3. Recomendaciones

- Las evidencias muestras que el Noni, presenta actividad antibacteriana in vitro, frente a diferentes microorganismos por lo que se recomienda realizar investigaciones en animales.
- El estudio de aplicación del extracto de Noni junto con otros antimicrobiano en distintas áreas profesionales muestra un gran desarrollo y avance en la lucha contra las infecciones, se recomienda continuar con este tipo de estudio.
- A nivel de las instituciones educativas se recomienda promover las investigaciones experimentales que ayuden a mejorar los problemas de resistencia y mejoren los tratamientos de los pacientes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Flores R, Villarroel J, Valenzuela F. Enfrentamiento de las infecciones de piel en el adulto. Revista Clínica Las Condes. 2021;32(4):429–41.
- 2. Liu G. Molecular Pathogenesis of Staphylococcus aureus Infection. National Institute of Healt. 2019;67(3):190–3.
- 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-resistancefound/es/
- Palomer R. L. Caries dental en el niño. Una enfermedad contagiosa. Vol. 77,
   Revista Chilena de Pediatría. 2006. p. 56–60.
- 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=S172859172019000200011&script= sci\_arttext
- Altamirano L, Castro E, Cruz C, Carrasco F, Cruz R, Moreno M. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de Morinda citrofilia (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
- De la Cruz N, Gómez A, Alvarez P, Ventura E, Pérez D, Avilés M, et al. Antibacterial activity of *Morinda citrifolia* Linneo seeds against Methicillin-Resistant *Staphylococcus spp.* Microb Pathog [Internet]. 2019; Available from:https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401018317893

- 8. Valencia M, Reyes J. Metabolitos secundarios del Noni (Morinda citrifolia). Chavira G, editor. México: Science ssociated Editors, L.L.C.; 2016.
- 9. Ojeda-garc JC, Oviedo-garc E, Andr L. Streptococcus mutans and dental caries. Revista CES Odontología. 2016;26(1):44–56.
- Definición de antibacteriano Diccionario de cáncer del NCI NCI [Internet].
   [cited 2022 Nov 18]. Available from: https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/antibacteriano
- 11. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda S. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Anal. 2016;6(2):71–9.
- 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/
- 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/
- 14. Bhardwaj A, Ballal S, Velmurugam 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. Journal of Conservative Dentistry [Internet]. 2016;15(3):293–7. Available from: https://www.jcd.org.in/article.asp?issn=09720707;year=2012;volume=15;iss ue=3;spage=293;epage=297;aulast=Bhardwaj

- 15. Altamirano L, Castro E, Cruz C, Carrasco F, Cruz R, Moreno M. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Morinda citrofilia* (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
- 16. 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/TE SIS Diaz - Vidarte.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 17. 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\_4b75a90485ab5774c5f8f 531eb0dfb25/Details
- Muñoz C. Como elaborar y asesorar una tesis de investigación. Segunda Ed.
   Gaona L, Hernández F, editors. Pearson Educación, S.A.; 2016.
- 19. Anónimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Available from: http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia III.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/
- 21. Díaz V. Metodología de la Investigación Científica y Bioestadística. 2da ed. RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. 564 p.

- 22. Arias S, Peñaranda F. La investigación éticamente reflexionada. Revista Facultad Nacional de Salud Pública [revista en Internet] 2015 [acceso 27 de setiembre de 2019]; 33(3): 444-451.
- 23. Comité de ética para la investigación científica. Guía Para La Elaboración De Las Consideraciones Éticas En La Investigación Con Seres Humanos/No Humanos. Facultad de salud UIS. 1989; 1989:1–2.

## **ANEXOS**

## Anexo A. Instrumento de recolección de datos

# EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE Morinda citrifolia L. (Noni) FRENTE A Streptococcus mutans ATCC 25175, IN VITRO

A100 25115, IN 11110											
	EXP	GRUPOS ERIMENTA	ALES	GRUPOS CONTROL							
Número de placas	100%	75%	50%	Control Negativo (etanol)	Control positivo (Clorhexidina 0.12%)						
Placa N°01	24,20	22,23	19,76	6,09	32,46						
Placa N°02	24,68	22,19	20,27	6,23	32,38						
Placa N°03	23,74	22,31	19,89	6,69	32,18						
Placa N°04	25,22	21,68	20,26	6,21	32,55						
Placa N°05	25,16	22,62	20,14	5,93	32,65						
Placa N°06	24,60	22,81	19,75	6,20	32,98						
Placa N°07	24,98	22,33	20,67	6,61	31,99						
Placa N°08	24,81	22,55	19,36	6,12	32,42						
Placa N°09	24,37	22,53	20,67	5,95	32,03						
Placa N°10	24,80	22,30	20,19	5,66	32,81						

## Anexo B. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis			
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General			
¿Poseerá efecto antibacteriano el extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, <i>in vitro</i> ?	demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia L.</i> (Noni) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	El extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda</i> citrifolia L. (Noni) tiene Efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175			
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas			
¿Presentará solubilidad en solventes polares y no polares el extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni)?	Determinar la solubilidad en solventes polares y no polares el extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> (Noni)	El extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda</i> citrifolia (Noni) es soluble en solventes polares y no polares			
¿Qué metabolitos secundarios presentará el extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni) que tienen efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro?	Determinar los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia L.</i> (Noni) con efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro	El extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda</i> citrifolia L. (Noni) presenta metabolitos secundarios con efecto antibacteriano frente a Streptococcus mutans ATCC 25175, in vitro			
¿El extracto etanólico en las concentraciones del 50%, 75% y 100% de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni) tendrá efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro?	Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia L.</i> (Noni) a las concentraciones del 50%, 75% y 100% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro.	El extracto etanólico a las concentraciones del 50%, 75% y 100% de las hojas de <i>Morinda citrifolia L.</i> (Noni) tiene efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro			
¿Presentará mayor Efecto antibacteriano el extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> L. (Noni) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro comparado con Clorhexidina al 0,12%?	Comparar la Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia L.</i> (Noni) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro con Clorhexidina al 0.12%.	La Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda citrifolia</i> (Noni) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro es mayor que Clorhexidina al 0.12%.			

# Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONE S	INDICADORE S	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
Extracto etanólico de las hojas de <i>Morinda</i> <i>citrifolia</i> (Noni)	Producto seco que presenta los principios activos de la especie vegetal empleada.	Maceración en etanol.	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 75 50
Efecto antibacteriano frente a Streptococcus mutans ATCC 25175	Disminución o muerte de la bacteria	Medida del tamaño de la zona de inhibición.		Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

## Anexo D. Carta de presentación



#### "Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

San Juan de Lurigancho 01 de junio del 2022

#### CARTA Nº103-2022/ EPFYB-UMA

Sr.
FRANS LEV AGUILAR BERRIOS
Propietario del terreno
Chiclayo
Presente. –

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo en nombre propio y de la Universidad María Auxiliadora, a quien represento en mi calidad de Director de la Escuela de Farmacia y Bioquímica.

Sirva la presente para pedir su autorización a que los bachilleres: PALOMINO HERNÁNDEZ, Anderson José, DNI 77710481 y PALAY HERNANDEZ, Perla Lisseth DNI 76507772 puedan recopilar datos para su proyecto de tesis titulado: "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE MORINDA CITRIFOLIA (NONI) FRENTE A Estreptococcus mutans ATCC 25175, IN VITRO".

Sin otro particular, hago propicio la ocasión para expresarle los sentimientos de mi más alta consideración y estima.

Atentamente,



Av. Canto Bello 431, San Juan de Lurigancho Telfi 369 1212 www.umaperu.edu.pe

# "AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL"

Chiclayo 03 de Junio del 2022

# Dr. JHONNEL SAMANIEGO JOAQUIN Director de la escuela profesional de farmacia y bioquímica

Yo: Frans Lev Aguilar Berrios con DNI 76561451 en calidad de propietario del terreno ubicado en departamento de Lambayeque, Perú.

Autorizo a los estudiantes de la Universidad Maria Auxiliadora, Palay Hernandez, Perla Lisseth con DNI 76507772 y Palomino Hernandez, Anderson Jose DNI 77710481 para que puedan recopilar las hojas de la planta de Noni.

Sin otro particular, le hago llegar mi saludo cordial.

Atentamente

Frans Lev Aguilar Berrios

### Anexo F. Certificado de análisis de la cepa en estudio



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications

Microorganism Name: Streptococcus mutans

Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-28\*\*

Reference Number: ATCC® 25175™\*

Purity: Pure

Passage from Reference: 3

Expiration Date: 2022/9/30 Release Information:

Quality Control Technologist: Christine Condon

Release Date: 2020/10/24

Performance

Macroscopic Features:

Medium: Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the S3AP other is

small, circular and translucent. Microscopic

Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and Gram Stin (1) predominately in chains

ID System: MALDI-TOF (1)

See attached ID System results document.

Other Features/ Challenges: Results

(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative

Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*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 the certificate is the actual base lot number.

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.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.





(\*) 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.



TESTING CERT #2655.01

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Anexo G. Certificado Botánico de la planta

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, Perla Lisseth Palay Hernández y Anderson José Palomino Hernández,

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, 14 junio del 2022

Blgo. Hamilton Beltrán

Fiologo - Botánico

Fahly

34

# Anexo H. Evidencias fotográficas del trabajo de Campo







Figura 3. Secado a temperatura ambiente de las hojas de Noni



Figura 4. Secado en estufa y triturado de las hojas de Noni



Figura 5. Pulverización y macerado de las hojas de Noni







Figura 6. Obtención del extracto seco





Figura 7. Preparación de los extractos a las concentraciones de 50%, 75% y 100%







Figura 8. Pruebas de solubilidad



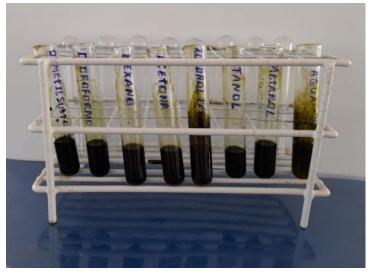


Figura 9. Marcha Fitoquímica



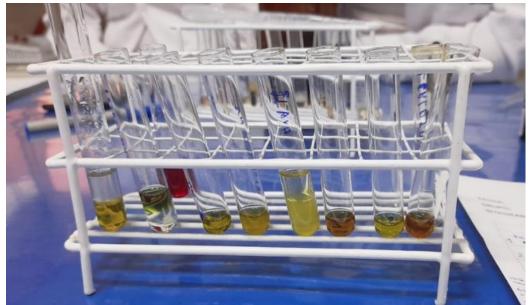


Figura 10. Activación de cepa de Streptococcus mutans



Figura 11. Incubación de placas en medio anaeróbico



Figura 12. Preparación del inóculo para sembrado en placa

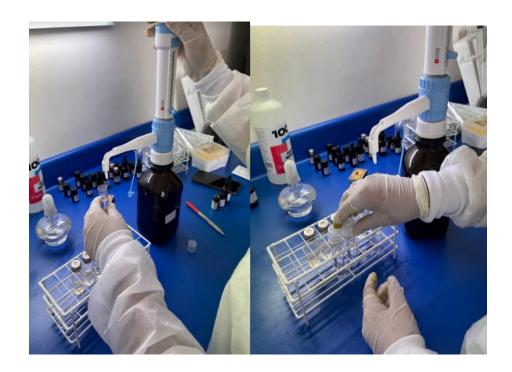


Figura 13. Rotulado de placas para inicio de trabajo



Figura: 14. Medición de los halos de inhibición





