

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Zulema Isabel, Rivera Gomez, con DNI 46670905 en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico (grado o título profesional que corresponda) de título "**ACTIVIDAD ANTIBACTERINA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE PLÁTANO DE SEDA (Musa paradisiaca L.) FRENTE A CEPA DE Streptococcus mutans ATCC 25175**", 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.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 21% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.



(Nombre y Firma)

Firma del autor:

Lima, 10, de Marzo 2023.

(Nombre y Firma)

Firma del Asesor:

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

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Esthefany Janeth, Cuellar Tello, con DNI 77574661 en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico (grado o título profesional que corresponda) de título "**Actividad actibacteriana in vitro del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (Musa paradisiaca L.) frente a cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175**", **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.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 21% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.



Lima, 10, de Marzo 2023.

(Nombre y Firma)

(Nombre y Firma)

Firma del autor:

Firma del Asesor:

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

TESIS - UMA -ACTIVIDAD-ANTIBACTERIANA-DE-CASCARA-DE-PLATANO(27-12-22

INFORME DE ORIGINALIDAD

21 %	21 %	6 %	5 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	9 %
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	9 %
3	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	1 %
4	Submitted to Universidad Catolica De Cuenca Trabajo del estudiante	1 %
5	dspace.ups.edu.ec Fuente de Internet	1 %
6	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1 %



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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE PLÁTANO DE SEDA (*Musa
paradisiaca* L.) FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans*
ATCC 25175**

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

AUTOR

Bach. CUELLAR TELLO, ESTHEFANY JANETH

<https://orcid.org/0009-0009-8303-2270>

Bach. RIVERA GOMEZ, ZULEMA ISABEL

<https://orcid.org/0009-0004-2022-9416>

ASESOR

Mg. BRAVO ARAUJO, GLORIA TULA

<https://orcid.org/0000-0002-8133-3370>

Lima – Perú

2023

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, a mis padres porque siempre estuvieron ahí conmigo dándome reglas para poder ser una persona de bien, a mi abuelo porque me educo desde muy pequeña enseñándome que es el respeto, a decir las dos palabras claves como base para cualquier cosa “por favor” y “gracias” y dedicarle en especial a mi hijita Catalina porque gracias a ella empecé a ver la realidad de otra manera por más que la tuve por muy poco tiempo entre mis brazos aprendí a tener otra visión por la vida como ahora la tengo junto a su padre.

Cuellar Tello, Esthefany Janeth

Quiero dedicar esta tesis a mi madre: Saturnina Gomez L. y a mi padre: Patroni Rivera O. les estoy muy agradecida por su amabilidad y su inalcanzable apoyo incondicional, a mi hija: Kaitlyn Esperanza Gonzales Rivera, por ser mi motivo de superación y el deseo de triunfo en esta vida, también agradezco a: Luis Alberto Gonzales Leguía por apostar en mí y compartir mi sueño, a mis hermanas y hermanos por estar a mi lado, brindándome cada día su apoyo y palabras de motivación.

Rivera Gomez, Zulema Isabel

AGRADECIMIENTO

A nuestra universidad María auxiliadora y docentes por brindarnos el espacio para alcanzar el grado de Químico farmacéutico.

A Dios por darnos salud y fuerza para culminar este trabajo de investigación. A nuestra asesora por brindarnos sus conocimientos en todo momento

A nuestras familias por su apoyo incondicional.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	7
II.1. Enfoque y diseño de la investigación.....	7
II.2. Población, muestra y muestreo.....	7
II.3. Variables de investigación	8
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	9
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos	9
II.6. Procesamiento del análisis estadístico	13
II.7. Aspectos éticos	13
III. RESULTADOS	14
IV. DISCUSIÓN	24
IV.1. Discusión de resultados	26
IV.2. Conclusiones.....	30
IV.3. Recomendaciones	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXO A: Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	39
ANEXO B: Matriz de consistencia.....	42
Anexo C. Operacionalización de las variables.....	44
ANEXO D. Certificado Taxonómico	46
ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio	47
ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton	48
ANEXO G. Certificado de análisis de Cepa <i>Streptococcus mutans</i>	52
ANEXO H. Evidencias fotográficas.....	54
ANEXO I. Porcentaje de rendimiento	64
ANEXO J. Certificado de sangre de carnero	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prueba solubilidad del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (Musa Paradisiaca L.)	14
Tabla 2. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (Musa Paradisiaca L.).....	15
Tabla 3. Resultados promedio de las mediciones de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (Musa Paradisiaca L.)	16
Tabla 4. Estadísticos descriptivos de la actividad antibacteriana del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (Musa Paradisiaca L.) frente a cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175	19
Tabla 5. Prueba de Normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (Musa paradisiaca L.) frente a cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175.....	21
Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianzas del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (Musa paradisiaca L.) frente a cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175	21
Tabla 7. Prueba Kruskal-Wallis de los halos obtenidos frente a la cepa de Streptococcus mutans ATCC 25175	22
Tabla 8. Comparaciones múltiples de pruebas no paramétricas corrección Bonferroni	23
Tabla 9. Prueba de subconjuntos para Streptococcus mutans ATCC 25175	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto antibacteriana del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (Musa Paradisiaca L.).....	17
Figura 2. Selección de la fruta.....	54
Figura 3. Muestra de tipo plátano de seda (Musa paradisiaca L.).....	54
Figura 4. Lavado de la muestra.....	54
Figura 5. Trozado de la muestra	55
Figura 6. Procedimiento de secado de la muestra	55
Figura 7. Procedimiento de molienda de la muestra	55
Figura 8. Preparación del macerado del extracto etanólico.....	56
Figura 9. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico.....	56
Figura 10. Proceso de vertido en placas	56
Figura 11. Obtención de extracto seco.....	57
Figura 12. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad	57
Figura 13. Agitación en el vortex.....	57
Figura 14. Resultado de prueba de solubilidad	58
Figura 15. Adición de extracto a los tubos de ensayo	58
Figura 16. Adición del reactivo en la marcha fitoquímica	58
Figura 17. Resultado de la marcha fitoquímica	59
Figura 18. Pesando del Agar.....	59
Figura 19. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica	59
Figura 20. Agar Mueller Hinton + sangre de carnero.....	60
Figura 21. Placas preparadas	60
Figura 22. Cepa biológica de tipo: Streptococcus mutans ATCC 25175.....	60
Figura 23. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mc. Farland.....	61
Figura 24. Rotulado de placas	61
Figura 25. Sembrado de la cepa biológicas en las placas.....	61
Figura 26. Efectuando pozos en agar con ayuda de un sacabocado.....	62
Figura 27. Sustancias experimentales y controles	62
Figura 28. Adición de la sustancia experimental en la placa Petri.....	62
Figura 29. Incubación.....	63
Figura 30. Placas Petri con halos de inhibición.....	63
Figura 31. Lectura de resultados.....	63

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) al 25%, 50%, 75% y 90% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Materiales y métodos: Investigación de tipo experimental, prospectivo, transversal. Se preparó el extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) al cual se realizaron los análisis de tamizaje fitoquímico que permitió determinar la presencia de metabolitos secundarios y la evaluación microbiológica a través del método de difusión en agar en pozos o Kirby Bauer modificado el cual requirió del uso de 10 repeticiones y estuvo constituida por grupos al 25 %, 50 %, 75 % y 90 % frente al grupo control (Clorhexidina 0.12 %).

Resultados: Los metabolitos secundarios que se detectaron fueron los compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas α , β -insaturadas y antraquinonas. Por otro lado, el extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) presentó sensibilidad bajo a una concentración del 90% presentando halos de inhibición de $8,8800 \pm 0,02055$, sin embargo, no superó al fármaco de referencia clorhexidina 0.12%.

Conclusión: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) presenta actividad antibacteriana en la concentración del 90 % frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Palabras clave: Actividad antibacteriana, *Musa paradisiaca* L. y *Streptococcus mutans*, extracto etanólico.

ABSTRACT

Objective: To determine the in vitro antibacterial activity of ethanolic extract of silk banana epicarp (*Musa paradisiaca* L.) at 25%, 50%, 75% and 90% against strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Materials and methods: Experimental, prospective, cross-sectional research. The ethanolic extract of the epicarp of silk banana (*Musa paradisiaca* L.) was prepared. to which the phytochemical screening analyzes were carried out that allowed to determine the presence of secondary metabolites and the microbiological evaluation through the method of diffusion in agar in wells or modified Kirby Bauer which required the use of 10 repeats and was constituted by groups at 25%, 50%, 75% and 90% compared to the control group (Chlorhexidine 0.12%).

Results: The secondary metabolites that were detected were phenolic compounds, alkaloids, lactones α , β -unsaturated and anthraquinones. On the other hand, the ethanolic extract of the epicarp of silk banana (*Musa paradisiaca* L.) presented low sensitivity to a concentration of 90% presenting halos of inhibition of 8.8800 ± 0.02055 , however, it did not exceed the reference drug chlorhexidine 0.12%.

Conclusion: The ethanolic extract of the epicarp of silk banana (*Musa paradisiaca* L.) presents antibacterial activity in the concentration of 90% against strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Key words: Antibacterial activity, *Musa paradisiaca* L. and *Streptococcus mutans*, ethanolic extract.

I. INTRODUCCIÓN

En la cavidad oral del ser humano existe un extenso y dinámico microbioma, el cual está conformado por amplio número de especies bacterianas las cuales muchas de estas producen enfermedades a este nivel, tales como la periodontitis y caries dental¹, esta última patología es ocasionada por *Streptococcus mutans*, debido a su particular metabolismo, el cual le permite provocar daño al esmalte dental². Según World Dental Federation (FDI), las caries es la cuarta enfermedad más costosa de tratar y afecta principalmente a los niños en edad escolar³.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) las caries afectan a 2000 millones de personas, de los cuales la gran mayoría proviene de países en vías de desarrollo en donde no se cuenta con los servicios básicos adecuados ni acceso a la atención primaria⁴. En Indonesia un estudio realizado en 50 niños escolares y 50 adultos halló que la prevalencia de esta bacteria fue del 94 y 52 % respectivamente⁵, de igual manera se halló en Irán en una muestra de 499 pacientes, el 77, 6 % estaba afectado por esta bacteria⁶, en India se llegó a aislar a este microorganismo en más del 50 % de pacientes que acudían a una clínica dental universitaria⁷, en Etiopía el 67, 5 % de pacientes diabéticos presento esta infección oral⁸. A nivel de Europa, en países como Kosovo un estudio realizado a 66 mujeres gestantes determinó que el 59, 1 % tenía una prevalencia alta y el 30, 3 % un nivel muy alto⁹ y en España se halló que el 86 % de la población gallega es portador¹⁰. Por otro lado, Latinoamérica es una de las zonas más afectadas por caries dentales ocasionadas por *Streptococcus mutans*, ya que afecta también a la población indígena principalmente a los habitantes en la selva de Brasil; otros países afectados son Chile, Venezuela, Colombia y México¹¹, en este último se halló que más del 70 % de adolescentes no realizaba una adecuada limpieza bucal y el 61 % presentó caries¹².

En el Perú, en el año 2019, el Ministerio de Salud (MINSA) brindó un informe en donde precisa que el 90, 4 % de la población peruana padece de caries dental y que el 85 % presenta otras enfermedades bucodentales. También indicó que la población más afectada eran las mujeres en estado de gestación y principalmente los pacientes diabéticos¹³.

A pesar de que en la actualidad existen diversas alternativas farmacéuticas para el tratamiento de esta patología, como la clorhexidina y otros antisépticos, estos han presentado problemas de seguridad, como la manifestación de reacciones adversas el cual genera perdida temporal del gusto, amarillamiento de los dientes, ardor a nivel local y además ya se han reportado casos de resistencia de *Streptococcus mutans* hacia estos productos, lo que genera que estos productos ya no sean eficaces^{14,15}.

Ante esta notable problemática en salud pública, se pueden utilizar residuos naturales derivados de las frutas como semillas y cáscaras, el cual forman parte del desecho producido por la industria alimentaria, por lo tanto, la gestión inadecuada de los vertederos ocasiona emisiones de gases, incluidos el metano y el dióxido de carbono, mientras que la incineración incompleta implica la formación posterior de desechos secundarios como dioxinas, furanos, gases ácidos y la liberación de otros contaminantes peligrosos que pueden causar graves problemas ambientales y de salud. Por estas razones, existe una necesidad urgente de encontrar aplicaciones biológicas en resguardo de la salud con estos residuos de alimentos como cáscaras de frutas. Estos últimos proporcionan una excelente fuente de carbohidratos, fibra, proteínas y fitoquímicos, de tipo compuestos fenólicos con altas capacidades antioxidantes y antibacterianas¹⁶.

La gran producción de plátanos también representa una elevada producción de residuos, ya que sólo se puede utilizar una pequeña parte de la planta (los frutos). Una planta de plátano sólo proporciona frutos una vez, cuando la planta es cosechada, producirá varios residuos orgánicos. Cada tonelada de cosecha de plátano, produce unos 100 kg de fruta rechazada y unas 4 toneladas de otros residuos. Los residuos del plátano consisten en el rizoma, tallo, racimo, hojas, cáscara y frutas podridas. Se sabe que cada parte de la planta del plátano tiene muchos compuestos fitoquímicos, estos son comúnmente utilizados para proteger las plantas de las enfermedades de las plagas¹⁷.

Para ello se formula la siguiente pregunta:

¿El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) al 25%, 50%, 75% y 90% presentará actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

El plátano pertenece a la familia de las musáceas (*Musa spp*) estas son plantas tropicales que alcanzan una altura de 9 metros y crecen principalmente en regiones de Sudamérica, Asia y África¹⁸. Esta especie vegetal presenta una amplia variedad de beneficios terapéuticos como antioxidante, antidiabético, reducción de peso, controla la salud cardiovascular, antineoplásico, etc.¹⁹. El fruto de esta especie vegetal presenta una gruesa cubierta que funciona como cáscara, sin embargo, no presenta valor alimenticio o agrícola debido a que es un residuo del fruto²⁰. Esta cáscara representa el 35 % de la masa fresca total del fruto maduro y además presenta diversos beneficios para salud humana debido a la presencia de múltiples grupos de metabolitos secundarios²¹, como compuestos fenólicos, flavonoides como el ácido elágico, ácido gálico, rutina, miricetina y naringenina; además de otras moléculas como vitamina E, octadecenamida, β -sitosterol y estigmasterol. La presencia de algunas sustancias como beta-tocoferol, vitamina E, estragol, etilo del ácido hexadecanoico, epicatequina, galocatequina, éster etílico del ácido p-cumárico y mono(2-etilhexil) éster del ácido 1,2 bencenodicarboxílico le brindan propiedades antioxidantes, además por su alto contenido en fenoles esto le proporciona actividad antimicrobiana²².

Streptococcus mutans, es una bacteria grampositiva de forma esférica y que crece en pares o cadenas, es anaerobio, no formador de esporas, catalasa negativa y no presenta movimiento²³. Es considerado como un odontopatógeno ya que debido a su metabolismo puede producir enfermedades bucodentales; su fisiología se basa en la fermentación de carbohidratos a los cuales convierte en ácido láctico, esto produce que el pH del medio disminuya proliferando su multiplicación sobre otras bacterias con las que compete, es por ello que el alto consumo de azúcares por parte de huésped genera el medio necesario para que este microorganismo destruya el esmalte dental y progrese el avance de las caries dental²⁴. Esta enfermedad es considerada como crónica ya que tiene que transcurrir un largo período de tiempo (entre 2 a 4 años) para que se desarrollen las lesiones cariosas²⁵.

La actividad antibacteriana se define como un término colectivo para todos los principios activos (metabolitos secundarios) en plantas medicinales que inhiben el crecimiento de bacterias, previenen la formación de colonias microbianas y destruyen microorganismos²⁶.

Entre los antecedentes internacionales están los estudios de:

Behiry D, et al (2019), realizaron una investigación cuyo objetivo principal fue evaluar la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de cáscara de *Musa paradisiaca* L. y además someterla a análisis por HPLC, en su análisis microbiológico utilizaron la técnica de difusión en agar contra especies bacterianas como *Agrobacterium tumefaciens*, *Dickeya solani*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas cichorii*, *Serratia plymuthica* y especies fúngicas como *Fusarium culmorum* y *Rhizoctonia solani*, como resultados obtuvieron presencia de compuestos fenólicos y flavonoides como ácido elágico, ácido gálico, ácido ferúlico, ácido o -cumárico, catecol, ácido salicílico, ácido cinámico, rutina, miricetina y naringenina. En cuanto a la actividad antibacteriana fue efectiva contra *Agrobacterium tumefaciens* con un halo de inhibición de 90 mm, mientras que las demás presentaron resistencia, concluyendo que la cáscara de plátano presenta actividad antimicrobiana²⁷.

Sutanti V y Anugrah A (2019), se plantearon como objetivo determinar la eficacia antibacteriana del extracto metanólico de cáscara de *Musa paradisiaca* L. var. *Bluggoe* contra *Porphyromonas gingivalis*, el extracto se obtuvo por la técnica de maceración el cual presentaron la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos, saponinas y triterpenoides, por otro lado respecto al análisis microbiológico se utilizó 06 grupos experimentales (concentraciones al 5 %, 7,5 %, 10 %, 12,5 %, 15 %, 17,5 %), como resultado principal hallaron que había diferencia estadísticamente

significativa entre cada grupo experimental ($p=0,005$), concluyendo que la cáscara de dicha especie vegetal inhibió el crecimiento bacteriano²⁸.

Fairuz E y et al (2022), determinaron la actividad antibacteriana del extracto de la cáscara de *Musa paradisiaca L.* frente a *Porphyromonas gingivalis*, en el estudio se trabajó con las concentraciones al 16 %; 32 % y 64 % del extracto vegetal, como resultado obtuvieron un valor de ($p<0.01$) para las concentraciones utilizadas y el grupo control mediante la prueba de ANOVA de una vía lo que evidencia diferencia significativa, concluyendo que la cáscara de plátano presenta actividad antibacteriana²⁹.

Como antecedentes nacionales tenemos:

Cashpa C (2022), tuvo como objetivo determinar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de la cascara no madura de *Musa paradisiaca L.* frente a *Candida albicans*, en su estudio experimental utilizó tres grupos experimentales conformados por control negativo, positivo y el extracto al 50 %, como resultados halló que el halo de inhibición obtenido fue de 10, 25 mm, lo que demuestra que existe una sensibilidad intermedia, concluyendo que el extracto hidroalcohólico presenta actividad antimicótica³⁰.

Orcchouarancca R (2020), tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas y cáscara de *Musa acuminata* frente a *Staphylococcus aureus*, mediante la técnica de Kirby-Bauer, como resultados se apreció que el extracto de hojas obtuvo un valor promedio de inhibición de 21, 20 mm frente al valor de 10, 40 mm del extracto de cáscara, concluyendo que existe amplia diferencia del efecto antibacteriana entre ambos extractos³¹.

Ortiz F y et al (2021), evaluaron el efecto antibacteriana de la savia de *Musa acuminata* frente *Enterococcus faecalis* al 50 % y 100 %, de concentración, como resultados hallaron que la evaluación fitoquímica detectó principalmente la presencia de flavonoides, mientras que los resultados microbiológicos mostraron semejanza entre los extractos y el control positivo, concluyendo que existe efecto antibacteriana in vitro³².

El objetivo general del presente estudio será determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) al 25%, 50%, 75% y 90% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

La hipótesis general del estudio será la siguiente:

El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) al 25%, 50%, 75% y 90% presenta actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación

Enfoque: Cuantitativo, porque se utilizó la recolección y el análisis de datos para contestar preguntas de investigación y probar hipótesis establecidas previamente, y confía en la medición numérica³³.

Diseño: Experimental, debido a que se manipuló la variable independiente (extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda) para observar su efecto sobre la variable dependiente (actividad antibacteriana de una especie vegetal frente a una cepa biológica)³⁴.

Explicativo: Porque buscó el porqué de los hechos mediante la relación causa-efecto, asimismo buscó relacionar las diferentes concentraciones del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) y la actividad antibacteriana resultante frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175³⁵.

Transversal: Porque se obtuvo información del objeto de estudio (población o muestra) en un momento y tiempo determinado³⁶.

II.2. Población, muestra y muestreo

La población vegetal fue de 10 kilos de plátano tipo seda (*Musa paradisiaca* L.) recolectados en el distrito de Querecotillo, provincia de Sullana en el departamento de Piura, a una altura de 65 m.s.n.m. y coordenadas de 4°50'23.89" S, 80°38'56.52" W.

La muestra estuvo conformada por 1 kg de epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.).

La población biológica fueron cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La muestra biológica fueron 10 placas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el cual comprende 10 repeticiones por cada tratamiento (4 experimentales al 25 %, 50 %, 75 %, 90 % y 2 controles como (clorhexidina y etanol 70°) el mismo que se considera de 5 pozos por cada placa.

El muestreo fue no probabilístico, debido a que la muestra no fue al azar y se considera criterios de inclusión y exclusión por parte de los investigadores.

Criterios de inclusión:

- Frutos con buen aspecto y sin lesiones.
- Frutos maduros
- Frutos de *Musa paradisiaca* L de tipo seda

Criterios de exclusión:

- Hojas, tallo y mesocarpio de plátano (*Musa paradisiaca* L.)
- Muestra que no proviene de Piura
- Frutos en estados de maduración avanzada

II.3. Variables de investigación

Variable Independiente: Extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.)

Definición conceptual: Fracción líquida obtenida por maceración etanólica, extraído del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.)³⁷.

Definición operacional: Concentración del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.)

Variable dependiente: Actividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Definición conceptual: Es la capacidad de una sustancia de inhibir y/o eliminar el crecimiento de una cepa biológica bacteriana³⁸.

Definición operacional: Sensibilidad bacteriana frente al extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) obtenida por medición del diámetro de los halos de inhibición.

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

La técnica del presente estudio comprendió la observación el cual consiste en observar atentamente el fenómeno, hecho o caso, tomar información y registrarla para su análisis correspondiente.

El instrumento que se utilizó en la investigación fue la ficha de recolección el cual fue diseñado por las investigadoras con el fin de registrar los datos del análisis fitoquímico y de la actividad microbiológica.

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1. Recolección de la muestra vegetal:

La recolección de la especie vegetal en estudio (*Musa paradisiaca* L.) se realizó en una de las zonas productoras de plátano de seda más importante del país, en el distrito de Querecotillo, provincia de Sullana en el departamento de Piura, a una altura de 65 m.s.n.m., luego fue llevado al laboratorio de análisis biológico y microbiológico Santa Rosa con RUC: 20332125266, para el tratamiento

correspondiente, por otro lado, respecto a la determinación botánica de la clase vegetal, fue realizado por un consultor botánico el cual determinó la clasificación taxonómica correspondiente.

II.5.2. Preparación de la muestra vegetal

Selección, lavado y deshidratación: Se seleccionó plátanos en buen estado, sin que presenten lesiones por hongos o insectos, estos fueron lavados con agua destilada, asimismo con hipoclorito de sodio al 0,5%, luego de que los plátanos estén secos se procedió a quitar la cascara, se cortaron en trozos de 1 cm x 1 cm, se colocaron en papel Kraft y fueron llevados a estufa a 40°C por 48 horas para la deshidratación correspondiente³⁹.

Homogenización y almacenamiento: La cáscara de plátano se pulverizó con un mortero hasta la obtención de un polvo homogéneo, el cual se almacenó en un frasco de vidrio color ámbar de boca ancha³⁹.

II.5.3. Preparación del extracto etanólico

Maceración: Se colocó un total de 200 g del polvo de cáscara de plátano de seda en un frasco de vidrio ámbar de boca ancha, luego se añadió etanol de 70° hasta una altura de 2 cm de la muestra, luego se procedió a macerar por 7 días en un lugar oscuro y libre de humedad con agitación constante mañana y noche³⁹.

Preparación de un extracto seco: Luego el macerado se filtró separando la cáscara de plátano del extracto fluido, el cual se concentró en un rotavapor, seguido se procedió a evaporar el solvente residual en estufa a 40°C hasta la obtención del extracto seco³⁹.

II.5.4. Porcentaje de rendimiento

La determinación del porcentaje de rendimiento se realizó usando la siguiente fórmula⁴⁰:

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

- %E = Porcentaje de rendimiento
- Pf = Peso final (Extracto seco obtenido)
- Pi = Peso inicial (Muestra molida)

$$\%E = \frac{25.6g \times 100}{200g}$$

II.5.5. Análisis de solubilidad

En el análisis de solubilidad se agregó 0.5 g del extracto seco y 0.5 mL de diferentes solventes de naturaleza apolar y polar en una serie de tubos con los siguientes solventes que pertenecen a la serie eluotrópica: Éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol, etanol, metanol y agua destilada⁴¹.

II.5.6. Marcha fitoquímica del extracto

Para realizar el análisis del tamizaje fitoquímico se utilizó 1 mL de extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) fluido en cada uno de los 14 tubos de ensayo, se siguió el método de la Dra. Olga Lock⁴², utilizando los siguientes reactivos:

- Prueba de Baljet: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 1 ml del reactivo el cual determinó la presencia de Lactonas α, β insaturadas por medio de coloración o precipitado rojo.
- Prueba de Dragendorff: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 1 ml del reactivo el cual determinó la presencia dealcaloides por medio de coloración rojo a naranja.

- Prueba de Wagner: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 1 ml del reactivo el cual determinó la presencia de alcaloides por medio de un precipitado pardo oscuro rojizo a marrón.
- Prueba de Mayer: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 1 ml del reactivo el cual determinó la presencia de alcaloides por medio de un precipitado blanco amarillento.
- Prueba de Gelatina-sal y Gelatina: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 1 ml del reactivo el cual determinó la presencia de taninos por medio de un precipitado blanco.
- Prueba de Fehling A - B y Benedict: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico seguido se añadió 1 ml del reactivo, finalmente se llevó a baño maría a 70 C° el cual determinó la presencia de azúcares reductores por medio de un precipitado color rojo ladrillo.
- Prueba de NaOH 10 %: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 1 ml del reactivo el cual determinó la presencia de antocianinas por medio de una coloración café - anaranjado.
- Prueba de Cloruro férrico: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 1 ml del reactivo el cual determinó la presencia de compuestos fenólicos por medio de un color azul, verde o negro.
- Prueba de Shinoda: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 2 limaduras de magnesio y 2 gotas de HCl, el cual determinó la presencia de flavonoides por medio de un color rojo (Flavona), rojo carmín (Flavonoles), carmín a magenta (Flavononas), y algunas veces azul o verde. Las chalconas y auronas, dan coloración roja directamente por adición de HCl concentrado al extracto etanólico.

- Prueba de Liebermann-Burchard: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 1 ml del reactivo el cual determinó la presencia de triterpenos y esteroides por medio de color verde y/o azul verdoso.
- Prueba de Índice Afro simétrico: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 4 ml de agua destilada, se agitó vigorosamente por 2 minutos, luego se observó si existió la presencia de espuma con 2 mm de espesor y permaneció por más de 2 minutos, lo que indicó la presencia de saponinas.
- Prueba de Borntrager: En un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto etanólico y luego se añadió 1 ml del reactivo el cual determinó la presencia de quinonas por medio de un color rosado a rojo.

II.5.7. Análisis antibacteriana por el método de difusión en agar en pozo – Kirby Bauer modificado

Preparación del estándar 0.5 de McFarland: Se preparó una solución de cloruro de bario 0,048 M, utilizando 0,499 g de dicha sal y disolviéndola en una fiola de 50 mL con agua destilada. Por otro lado, se preparó una solución de ácido sulfúrico 0,18 M con 1,01 mL de ácido sulfúrico concentrado en una fiola de 100 mL. Finalmente, para obtener el estándar se disolvió 0,5 y 95, 5 mL de cloruro de bario 0,048 M y ácido sulfúrico 0,18 M respectivamente⁴³.

Preparación del inóculo: La cepa a utilizar fue el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, la reactivación de la bacteria fue mediante el uso del pellet KWIK-STIK™ que contiene la cepa liofilizada, este fue disuelto con el líquido que provee el fabricante, luego se utilizó un hisopo estéril en la solución y se homogenizó en agar sangre, finalmente se llevó a incubar a 37°C por 24 horas⁴⁴.

Inoculación de las placas: Luego de la preparación del inóculo, se procedió a sembrar en agar Müller-Hinton sangre para *Streptococcus mutans*, introduciendo

un asa de siembra sobre el inóculo que contiene las cepas biológicas para luego sembrar en las placas correspondiente⁴⁵.

Preparación de las concentraciones de solución con extracto seco del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.): Se pesó 2.5 g, 5 g, 7.5 g y 9 g de extracto seco de la muestra en investigación para el 25 %, 50 %, 75 % y 90 % respectivamente, luego se adicionó cantidad suficiente de etanol de 70° con la finalidad de disolverse; por último, se llevó la mezcla a una fiola de 10 mL hasta el aforo⁴⁶.

Preparación de los pozos: Los pozos de investigación se prepararon utilizando un punzón estéril de 6 mm de diámetro en cada placa. A cada pozo se le agregó 50 µL del extracto etanólico de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) de cada concentración (25 %, 50 %, 75 % y 90 %) y controles (Clorhexidina y etanol 70). Las placas se dejaron durante una hora para permitir la difusión de la muestra en el agar, seguido de una incubación a 37 °C de 24 a 48 horas, para luego medir los halos de inhibición por medio del uso del vernier digital.

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

Luego de los análisis realizados en laboratorio, los resultados se recolectaron en el instrumento de estudio, asimismo estos datos fueron cargados a una hoja de cálculo de tipo Excel, los cuales fueron procesados para el análisis estadístico correspondiente en un programa denominado Statistical Package for Social Sciences – SPSS versión 27, mediante la ejecución de pruebas descriptivas e inferenciales como H de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples de pruebas no paramétricas con corrección Bonferroni.

II.7. Aspectos éticos

El presente estudio tomó en cuenta los aspectos bioéticos para así evitar la contaminación bacteriana hacia las personas y al medio ambiente, utilizando protocolos de bioseguridad en los procesos la manipulación, transporte, utilización, descontaminación y eliminación de desechos⁴⁷.

III. RESULTADOS

III.1. Prueba de solubilidad

Tabla 1. Prueba solubilidad del extracto etanólico del epicarpio de plátano deseda (*Musa Paradisiaca L.*)

TUBO	SOLVENTE	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	-
N° 2	Dicloro metano	-
N° 3	Cloroformo	-
N° 4	Butanol	-
N° 5	Etanol 96	-
N° 6	Metanol	+
N° 7	Agua destilada	+
N° 8	Ácido acético	++
N° 9	Etanol 70	+++

Leyenda

- No soluble o Insoluble (-)
- Poco soluble (+)
- Mediana o moderadamente Soluble (++)
- Completamente soluble (+++)

La tabla 1, muestra la prueba de solubilidad del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda *Musa Paradisiaca L.*, para lo cual se emplearon distintos solventes con diferente polaridad. El resultado de mayor solubilidad (+++) corresponde al solvente etanol 70, seguido del ácido acético (++) con mediana solubilidad, por último, agua destilada y metanol manifestaron ser poco soluble (+) e insoluble para éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol y etanol 96.

III.2. Marcha fitoquímica

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa Paradisiaca L.*)

TUBO	Reactivo de identificación	METABOLITOS SECUNDARIOS	RESULTADO
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	++
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	-
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	+++
N° 5	Mayer	Alcaloides	++
N° 6	Wagner	Alcaloides	+++
N° 7	Baljet	Lactonas α , β -insaturadas	+++
N° 8	Gelatina	Taninos	-
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	-
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	+
N° 11	Espuma	Saponinas	+
N° 12	Shinoda	Flavonoides	+

	Reactivo de identificación	METABOLITOS PRIMARIOS	RESULTADO
N ◦ 1 3	Benedict	Azúcares reductores	+++
N ◦ 1 4	Fehling A y B	Azúcares reductores	+++

Leyenda:

- (-) La coloración o precipitado no se evidencia
- (+) La coloración o precipitado se evidencia poco
- (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente
- (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

La tabla 2, muestra la marcha fitoquímica del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda *Musa Paradisiaca L.*, la determinación se realizó mediante pruebas coloración y precipitación, dependiendo de los grupos químicos presentes en la muestra vegetal, con el fin de identificar los metabolitos secundarios y primarios con actividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

Se muestra la presencia de metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos, alcaloides y lactonas α , β -insaturadas, el cual manifestaron evidencia notable (+++) estos fueron identificados mediante los reactivos: Cloruro férrico, Dragendorff, Wagner y Baljet respectivamente; evidencia moderada (++) en antraquinonas y alcaloides mediante los reactivos: Borntrager y Mayer; poca evidencia (+) en antocianinas, flavonoides y saponinas mediante los reactivos: NaOH 10%, shinoda y Espuma. Para la identificación de metabolitos primarios se utilizaron reactivos Fehling A y B; y Benedict, obteniendo evidencia notable (+++).

III.3. Ensayo microbiológico

Tabla 3. Resultados promedio de las mediciones de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa Paradisiaca L.*)

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm					Control positivo (Clorhexidina 0.12%)
	Control negativo (Etanol 70°)	25%	50%	75%	90%	
<i>Streptococcus mutans</i>	6	6	6	7	8	19.90
				8	8	
				1	9	
	6	6	6	7	8	19.94
				8	8	
				2	5	
	6	6	6	7	8	19.99
				8	9	
				5	0	
	6	6	6	7	8	20.06
ATCC 25175				8	8	
				2	7	
	6	6	6	7	8	19.99
				8	9	
				6	1	
	6	6	6	7	8	19.98
				8	8	
				0	6	
	6	6	6	7	8	19.98
				8	9	
			5	0		
6	6	6	7	8	19.90	
			8	8		
			0	6		
6	6	6	7	8	19.96	
			7	8		
			9	7		
6	6	6	7	8	19.94	
			.	.		

				8	8	
				0	9	
Media	6	6	6	7	8	19.96
				.	.	
				8	8	
				2	8	

LEYENDA: Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)

- (-) Nula: Diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm)
- (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm)
- (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

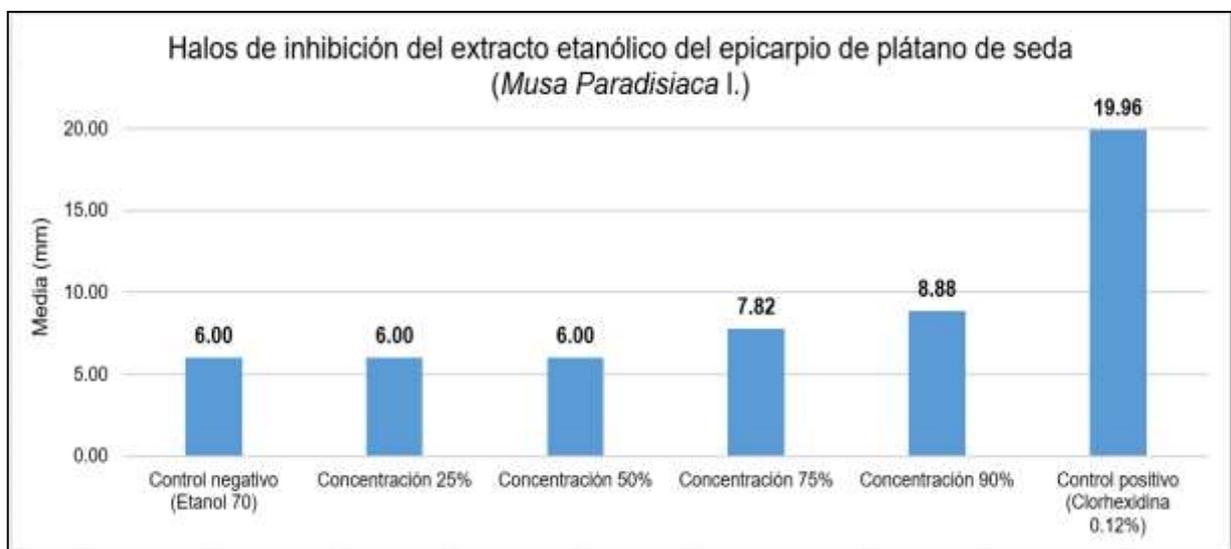


Figura 1. Efecto antibacteriana del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa Paradisiaca L.*)

En la tabla 3 y figura 1 se observan los resultados promedios de los halos de inhibición (mm) de los días que se realizó el ensayo, el halo representa el efecto antibacteriana del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa Paradisiaca L.*) frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Según la escala interpretativa en mención, la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175, tanto para el control negativo, así como en las concentraciones del 25%, 50% y 75% se muestran valores menores a 8mm, por lo que se entiende que no hay actividad antibacteriana (nula) por otro lado, en la concentración del 90% la cepa presenta una sensibilidad baja, con 8.88 mm. Sin embargo, para el control positivo (Clorhexidina 0.12%) la cepa es muy sensible con un valor de 19.96 mm.

III.4 Contrastación de hipótesis

Para contrastar las hipótesis de investigación, se utilizaron pruebas estadísticas paramétricas, donde se procesaron los resultados según las hipótesis planteadas por las investigadoras respecto a la determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) al 25%, 50%, 75% y 90% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el cual se utilizaron controles positivo como clorhexidina 0.12% y control negativo al etanol de 70°, cada uno de ellos con 10 repeticiones por grupo, y finalmente los resultados fueron interpretados según la escala estandarizada de Duraffourd y Lapraz.

III.4.1. Contrastación de hipótesis general

H0: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca*L.) al 25%, 50%, 75% y 90% no presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

H1: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca*L.) al 25%, 50%, 75% y 90% presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Para contrastar la hipótesis general, se realizó los análisis estadísticos descriptivos el cual comprende la media, desviación estándar, error estándar, límites de confianza y valores mínimo y máximo para cada grupo de estudio con la cepa bacteriana en investigación, se evidenció que todos los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites de confianza. Se evaluó la media de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos frente la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz.

En la tabla 4 se apreció que para la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el control negativo no tiene actividad antibacteriana, con una media de $6.00 \pm 0,00000$, el cual corresponde al diámetro del pozo (6.00 mm). Considerando la escala de Duraffourd, se observó que las concentraciones del extracto etanólico de plátano de seda *Musa Paradisiaca L.* al 25%, al 50% y al 75% obtuvieron una sensibilidad nula con una medida de $6.00 \pm 0,00000$; $6.00 \pm 0,00000$ y $7,8200 \pm 0,02494$ mm respectivamente, y al 90% una sensibilidad baja ($8,88 \pm 0,02055$ mm), por otro lado, la cepa es muy sensible para el control positivo (Clorhexidina 0.12%) $19,96 \pm 0,04766$ mm.

Decisión: El extracto etanólico de plátano de seda *Musa Paradisiaca L.* posee actividad antibacteriana al 90% frente a la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Tabla 4. Estadísticos descriptivos de la actividad antibacteriana del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa Paradisiaca L.*) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

95% de intervalo de confianza para la media									
		I	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Control negativo (Etanol 70°)	6,0000	6,0000	0,0000	,0000	6,0000	6,0000	6,0000	6,0000
	Ext. 25%	6,0000	6,0000	0,0000	,0000	6,0000	6,0000	6,0000	6,0000
	Ext. 50%	6,0000	6,0000	0,0000	,0000	6,0000	6,0000	6,0000	6,0000

Ext. 75%	'	7	0,0	,0	7,	7,	7	7
	(,	249	07	80	83	,	,
		8	4	89	22	78	7	8
		2					9	6
		0						
		0						
Ext. 90%	'	8	0,0	,0	8,	8,	8	8
	(,	205	06	86	89	,	,
		8	5	50	53	47	8	9
		8					5	1
		0						
		0						
Control	'	1	0,0	,0	19	19	1	2
pos	(9	476	15	,9	,9	9	0
itivo		,	6	07	29	98	,	,
(Clorhexidina		9			9	1	9	0
0.12%)		6					0	6
		4						
		0						

III.4.2 Contrastación de hipótesis específica

- Hipótesis específica 1:

H0: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) no posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

H1: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

Para contrastar la presente hipótesis, se realizó la Marcha Fitoquímica siguiendo el Método de Olga Lock, la determinación se realizó en base al fundamento de coloración y precipitación en los tubos de ensayo, en relación a la presencia y ausencia de metabolitos en la especie vegetal, se identificó los metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, en la Tabla N° 2, se evidenció el cambio evidente de color que corresponde a los alcaloides según el reactivo Dragendorff (+++), seguida de otros metabolitos como los compuestos fenólicos (+++), Lactonas α , β -insaturadas (+++) y Antraquinonas (++) .

La presencia de estos metabolitos secundarios guarda relación con la actividad biológica antibacteriana del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.).

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1) que indica que el extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

- Hipótesis específica 2:

H0: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) no posee actividad antibacteriana a mayor concentración frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

H1: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) posee actividad antibacteriana a mayor concentración frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Para la elección del estadístico usado, se realizó el cumplimiento de los supuestos: prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas.

Tabla 5. Prueba de Normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Pruebas de normalidad				
	Grupo	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Clorhexidina 0.12%	0,193	10	0,200*
	Etanol 70°	0,193	10	0,200*
	25 %	0,193	10	0,200*
	50%	0,193	10	0,200*
	75%	0,200	10	0,200*
	90%	0,187	10	0,200*

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

La tabla 5 mediante la prueba de normalidad indicó que los halos de inhibición obtenidos presentan una distribución normal ($p > 0,05$), para ello se consideró la prueba de Kolmogorov-Smirnov debido a que la muestra fue mayor a 50.

Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianzas del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Pruebas de homogeneidad de varianzas				
Estadístico de Levene		g 1	g 2	S i g .
<u><i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</u>	12,406	5	5 4	0 , 0 0 0

Para la determinación de la homogeneidad de varianzas de cada tratamiento aplicado se utilizó una prueba estadística inferencial denominado Test de Levene, el cual evidenció que ($p < 0.05$) interpretando que las varianzas no son homogéneas. A pesar de que las variables tuvieron una distribución normal, no existió homogeneidad de varianzas y esto fue un indicador del uso de estadísticos No paramétricos.

Para contrastar la hipótesis específica 2, se utilizó el estadístico de H de Kruskal- Wallis el cual es una prueba No paramétrica que se utiliza para determinar si una población tiene valores diferentes que otras poblaciones, como los diferentes grupos en estudio el cual comprende al extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) al 25%, 50%, 75% y 90%, control positivo (clorhexidina 0.12%) y control negativo (etanol de 70°), asimismo un estadístico para comparaciones múltiples de pruebas no paramétricas con corrección Bonferroni.

Tabla 7. Prueba Kruskal-Wallis de los halos obtenidos frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	
N total	60
Estadístico de prueba	58,099 ^a
Grado de libertad	5
Sig. asintótica (prueba bilateral)	0,000
a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.	

La prueba de Kruskal-Wallis fue significativo el cual implica que al menos dos grupos de entre los comparados son significativamente diferentes, pero no se muestra entre que grupos existe la diferencia, para determinarlos es necesario realizar la comparación entre ellos. Esto implica realizar pruebas post-hoc, en este caso se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de pruebas no paramétricas con corrección Bonferroni.

En la tabla 8 la prueba permitió realizar comparaciones múltiples el cual los valores de significancia asintótica bilateral son menores al 0.05 en las comparaciones entre el control positivo (Clorhexidina 0.12%) frente a los grupos experimentales que favorecen al grupo Clorhexidina 0.12%, esto es evidencia de que los grupos experimentales al 25 %, 50 %, 75 % y 90% no superan el efecto inhibitor de la Clorhexidina 0.12% frente a la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Tabla 8. Comparaciones múltiples de pruebas no paramétricas corrección Bonferroni

Comparaciones por parejas de Grupo					
Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de prueba	Desv. Erro r	Desv. Estadístic ode prueba	S i g .	S ig.aju sta da ^a
Etanol 70°-Clorhexidina 0.12%	40,000	7,305	5,476	0,000	0,000
25 %-Clorhexidina 0.12%	40,000	7,305	5,476	0,000	0,000
50%-Clorhexidina 0.12%	40,000	7,305	5,476	0,000	0,000
75%-Clorhexidina 0.12%	20,000	7,305	2,738	0,006	0,006
90%-Clorhexidina 0.12%	10,000	7,305	1,369	0,000	0,000

				0	
				0	
Etanol 70°-25 %	0,000	7,30 5	0,000	1 , 0 0 0	1,0 00
Etanol 70°-50%	0,000	7,30 5	0,000	1 , 0 0 0	1,0 00
Etanol 70°-75%	-20,000	7,30 5	-2,738	0 , 0 0 6	0,0 06
Etanol 70°-90%	-30,000	7,30 5	-4,107	0 , 0 0 0	0,0 01

a. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección Bonferroni para varias pruebas.

Por otro lado, se muestra que el valor de la significancia asintótica bilateral es mayor al 0.05 en la comparación entre el grupo experimental al 25 % y 50 % y el control negativo (Etanol 70°) en el ensayo microbiológico con la cepa bacteriana *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Esto es evidencia de que no existe diferencias estadísticamente significativas entre el grupo al 25 % y 50% de experimentación y el control negativo (Etanol 70°), evidenciando que no existe actividad antibacteriana en el grupo 25 % y 50%. Por otro lado, los valores de la significancia asintótica bilateral son menores al 0.05 entre los grupos experimentales 75 %, y 90% en la comparación con el control negativo (Etanol 70°), esto es evidencia de

que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales y el control negativo.

Tabla 9. Prueba de subconjuntos para *Streptococcus mutans* ATCC 25175

<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175					
Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Etanol 70°	1 0	6, 0 0 0 0			
25 %	1 0	6, 0 0 0 0			
50%	1 0	6, 0 0 0 0			
75%	1 0		7 , 8 2 0 0		
90%	1 0			8 , 8 8 0 0	
Clorhexidina 0.12%	1 0				1 9 , 9 6 4 0
Sig.		1, 0 0 0	1 , 0 0 0	1 , 0 0 0	1 , 0 0 0

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

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

En la tabla 9, se puede observar que no todas las medias de los tratamientos aplicados son distintas, existiendo grupos con medias iguales y grupos el cual difieren, además a mayor concentración del extracto se observa una mayor inhibición, halos más grandes (se observa en forma de escalera), el extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) al 90% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 tiene mayor diámetro, dando como resultados halos de 8,88 mm (sensibilidad baja), esto también se visualiza en la Figura 1. Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna (H1) y se rechaza la hipótesis nula (H0).

Decisión: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca*L.) posee actividad antibacteriana a mayor concentración frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

- Hipótesis específica 3:

H0: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca*L.) al 25%, 50%, 75% y 90% no presenta mejor actividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con el fármaco de referencia (Clorhexidina 0.12%)

H1: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca*L.) al 25%, 50%, 75% y 90% presenta mejor actividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con el fármaco de referencia (Clorhexidina 0.12%)

En la Tabla 9, se evidencia para la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175, que las medias de los diámetros a diferentes concentraciones son inferiores a los obtenidos por el control positivo y/o fármaco de referencia (Clorhexidina 0.12%), ello indica que el bactericida utilizado como control positivo tienen mayor diámetro de inhibición. Por lo tanto, se acepta la Hipótesis nula (H0) y se rechaza la Hipótesis alternativa (H1).

Decisión: El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca*L.) al 25%, 50%, 75% y 90% no presenta mejor actividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con el fármaco de referencia (Clorhexidina 0.12%)

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de resultados

Actualmente, las cáscaras de diversos frutos son considerados como residuos sin ninguna utilidad práctica y mucho menos con alguna aplicación biológica, por el contrario, generan contaminación de gran impacto negativo al medio ambiente, sin embargo, esto es motivo de principales empresas e investigadores de todo el mundo en tratar de mitigar esta problemática con el uso de estos derivados de frutas con enfoques y usos que beneficien a la población. Por consiguiente, el presente estudio tiene por objetivo principal determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del epicarpio de plátano deseda (*Musa paradisiaca* L.) al 25%, 50%, 75% y 90% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175,

En la primera hipótesis específica, respecto al ensayo del tamizaje fitoquímico fueron los compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas α , β -insaturadas y antraquinonas los principales metabolitos con mayor presencia, esto es evidencia el potencial efecto biológico que tiene este derivado del fruto de *Musa paradisiaca* L., los resultados fitoquímicos de la presente investigación son similares con el estudio de Behiry D, et al (2019), quienes identificaron la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides en la cáscara de *Musa paradisiaca* L., sin embargo, cabe resaltar que a pesar de tener metabolitos secundarios semejantes, las investigaciones tuvieron diferencias en base al uso del tipo de solvente para la maceración, el cual corresponde al etanol de 70° y metanol respectivamente, estas diferencias químicas en la cantidad de carbonos radican que el metanol es el único alcohol que tiene tres hidrógenos en la base de su hidroxilo a diferencia de otros alcoholes con mayores carbonos en su cadena ramificada²⁷.

En otro estudio realizado por Sutanti V y Anugrah A (2019) evidenciaron la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos, saponinas y triterpenoides en muestras del extracto metanólico de cáscara de *Musa paradisiaca* L. var. Bluggoe, resaltando que este estudio se realizó en Indonesia sin embargo guarda relación con los metabolitos secundarios encontrados en el presente estudio, esto se debería que a pesar de ser muestras de diferentes países tienen

en común la especie vegetal, asimismo, el tipo de suelo no ha sido indicador para remarcar diferencias entre los metabolitos secundarios en cada estudio²⁸.

En la segunda hipótesis específica, en el ensayo microbiológico se evidenció que las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 90% del extracto mostraron halos de inhibición de 6.00; 6.00, 7.82 y 8.88 mm respectivamente, estos resultados no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en los grupos experimentales 25% y 50%, según las comparaciones múltiples de pruebas no paramétricas con corrección Bonferroni, por otro lado, si presentó diferencias estadísticamente significativas para los grupos experimentales 75% y 90 %, realizando la contrastación según la escala interpretativa de Duraffourd y Lapraz (1983), que considera nula el diámetro del halo de inhibición menor de 8 mm, sensible bajo si es de 8 - 14 mm, muy sensible de 14 - 20 mm y sumamente sensible si el diámetro es mayor de 20 mm, por lo tanto se determinó sensibilidad nula al grupo experimental del 75% debido a que el halo es 7.82 mm el cual no supera el halo mínimo aceptable que corresponde a 8.00 mm. Finalmente, el halo del 90% se considera un halo sensible bajo por sobrepasar el rango mínimo aceptable, además, de tener diferencias estadísticamente significativas en beneficio del grupo experimental, por lo tanto el único grupo con actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fue el grupo del 90%. Este estudio posee resultados semejantes al de Fairuz E y et al (2022), quienes determinaron la presencia de actividad antibacteriana del extracto de la cáscara de *Musa paradisiaca* L. a dosis mayores frente a *Porphyromonas gingivalis*, a pesar de que el estudio de Fairuz E y et al (2022) fue frente a una cepa diferente al estudio presente, poseen resultados semejantes esto se debería a que las dos cepas tienen en común el hábitat a nivel bucal considerado como *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans*²⁹.

En otro estudio realizado por Orcohuarancca R (2020), se evidenció la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas y cáscara de *Musa acuminata*, esto se debería a la presencia de alcaloides que tienen actividad antibacteriana el cual se le conoce como inhibidor de la síntesis de ADN, estos metabolitos secundarios son compuestos nitrogenados heterocíclicos que contienen al

menos un átomo de nitrógeno, este grupo de bases reacciona con compuestos ácidos en la célula bacteriana como el ADN, que es el componente principal del núcleo celular⁴⁸.

Otro aspecto por el cual se relaciona la actividad antibacteriana es debido a la presencia de taninos, flavonoides y saponinas en el estudio de Morales A (2020) el cual evidenciaron la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de la cascara de plátano (*Musa paradisiaca*) frente a *Propionibacterium acnes*, esta actividad biológica se debería a que los flavonoides inhiben la síntesis de ácidos nucleicos de las bacterias a través del anillo del grupo B que tiene un papel en el proceso de intercalación del ADN, o a través de enlaces de hidrógeno con la disposición básica de los ácidos nucleicos de las bacterias que inhibirán la síntesis de ADN o ARN. Además, los flavonoides tienen la capacidad de interferir con la actividad de la transpeptidasa peptidoglicano de modo que se altera la formación de la pared celular, el cual genera como resultado que la célula bacteriana no soporta la presión osmótica interna, donde es suficiente para romper las células que destruyen las paredes celulares eliminando al agente microbiano⁴⁹.

En la tercera hipótesis específica en el ensayo microbiológico se evidenció que las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 90% del extracto mostraron halos de inhibición de 6.00; 6.00, 7.82 y 8.88 mm respectivamente, frente al 19.96% que posee la clorhexidina 0.12%, asimismo estos resultados presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en los grupos experimentales del 25%, 50%, 75% y 90% según las comparaciones múltiples de pruebas no paramétricas con corrección Bonferroni a favor del grupo de la clorhexidina 0.12%, evidenciando que ninguno de los halos de inhibición presentes, superan el efecto inhibitorio de la clorhexidina 0.12%.

Esto se debe a que la clorhexidina (CHX) se ha usado en la práctica dental como agente antiséptico desde 1970, debido a su actividad antibacteriana de larga duración con un amplio espectro de acción. Desde entonces, muchos ensayos clínicos han mostrado resultados favorables de clorhexidina para el manejo clínico de la placa dental, inflamación y sangrado gingival. Esto está respaldado por investigaciones que utilizan métodos in vitro y reportan resultados positivos

de clorhexidina en la disminución de proliferación de cepas bacterianas relacionadas con patologías periodontales, como Enterobacterias, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, especies de Actinomyces y Streptococcus, incluido *Streptococcus mutans*, que se considera el principal agente etiológico de la caries dental. Asimismo, la clorhexidina es efectivo en el tratamiento de la halitosis, reduciendo los niveles de bacterias asociadas con la halitosis que colonizan la superficie dorsal de la lengua⁵⁰

Estos resultados son semejantes al estudio de Jaimes Z y Tovar M (2020) quienes evidenciaron que el extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado) a pesar de tener un efecto inhibitor aceptable, este no supera al fármaco usado como referencia (clorhexidina 0.12%), los resultados a pesar de ser semejantes y tener en común el mismo género vegetal, poseen una diferencia frente a la comparación de sus extractos con el fármaco de referencia (Clorhexidina 0.12%)⁵¹.

Otro estudio realizado por Ortiz F y *et al* (2021), evaluaron el efecto antibacteriano de *Musa acuminata* frente *Enterococcus faecalis* al 50 % y 100 %, evidenciando que las concentraciones experimentales no superaron el efecto antibacteriano del fármaco de referencia y/o control positivo usado (clorhexidina al 0,12%)⁵².

Según los análisis en el presente estudio, estos resultan ser prometedores y confuturas aplicaciones en el ámbito de la salud para el aprovechamiento integral de este fruto que se obtiene fácilmente por parte de los usuarios.

IV.2. Conclusiones

1. El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175
2. Los metabolitos secundarios que se identificaron mediante la marcha fitoquímica del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musapradisiaca* L.) fueron los compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas α,β -insaturadas y antraquinonas, estos serían los responsables de la actividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC25175.
3. La concentración del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) que posee efecto antibacteriana es del 90%.
4. El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.) a las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 90% no superan el efecto inhibidor de la Clorhexidina 0.12% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

IV.3. Recomendaciones

- Realizar investigaciones utilizando el epicarpio de plátano frente a otros microorganismos como hongos, parásitos, para obtener resultados que aporten el uso integral de este fruto.
- Ejecutar estudios con diferentes métodos microbiológicos para comparar con los ensayos realizados en los antecedentes.
- Efectuar investigaciones con enfoque farmacológico in vivo que aporten aspectos innovadores de este residuo derivado del plátano.
- Realizar estudios de aspecto farmacológico con técnicas in vitro que permitan fortalecer el conocimiento químico y estructural del epicarpio de plátano que hasta la actualidad es considerado un residuo sin tomar en cuenta los beneficios biológicos y el impacto medioambiental que conlleva su aprovechamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lamont R, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2018;16(12):745–59. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41579-018-0089-x>
2. Cui T, Luo W, Xu L, et al. Progress of Antimicrobial Discovery Against the Major Cariogenic Pathogen *Streptococcus mutans*. *Curr Issues Mol Biol* [Internet]. 2019;32:601–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31166181/>
3. World Dental Federation. Vision 2020 de la FDI: Delinear el futuro de la salud bucodental [Internet]. 2020. Available from: https://www.fdiworlddental.org/sites/default/files/2020-11/vision_2020_spanish.pdf
4. Organización Mundial de la Salud (OMS). Salud Bucodental [Internet]. 2022. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
5. Zubaidah N, Dianawati N, Ridwan R, Shirakawa T. The Clinical Pattern and Prevalence of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* among Adult and Children Patients with Dental Caries. *Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr* [Internet]. 2022;22:1–11. Available from: <https://www.scielo.br/j/pboci/a/7yGVtFFKgbm4YfBjN7LfHLF/>
6. Babaeekhou L, Ghane M, Ezatzade F, Eftekhari S. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* distribution in the saliva and plaque of Iranian population: Higher prevalence of *S. mutans* serotypes f and k. *Int J Dent Hyg* [Internet]. 2021;19(2):193–200. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33369141/>
7. Mummolo S, Nota A, Albani F, et al. Salivary levels of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* and other salivary indices in patients wearing clear aligners versus fixed orthodontic appliances: An observational study. *PLoS One* [Internet]. 2020;15(4). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7182227/>
8. Tewabe H, Haile B. Prevalence of Dental Caries of *Streptococcus mutans* among Diabetic Patients Who are Attending Jimma University Specialized

- Hospital Dental Clinic, South-West, Jimma, Ethiopia. *J Clin Immunol Microbiol*[Internet]. 2020;01(02):1–14. Available from: <https://athenaeumpub.com/prevalence-of-dental-caries-of-streptococcus-mutans-among-diabetic-patients-who-are-attending-jimma-university-specialized-hospital-dental-clinic-south-west-jimma-ethiopia/>
9. Behluli E, Dragidella F, et al. Comparative study of *Streptococcus mutans* in pregnant women's saliva in the first and third trimesters. *J Int Dent Med Res* [Internet]. 2021;14(1):280–5. Available from: <https://www.proquest.com/openview/0710c16c8461821edc1538899b9f4c2e/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1036416>
 10. Saltos N, Seoane R, Aguilera A, Santos Y. Molecular and serological typing of *Streptococcus mutans* strains isolated from young Galician population: relationship with the oral health status. *Int Microbiol* [Internet]. 2020;23(4):589–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32445163/>
 11. Martignon S, Roncalli AG, Alvarez E, Aránguiz V, Feldens CA, Buzalaf MAR. Risk factors for dental caries in Latin American and Caribbean countries. *Braz Oral Res* [Internet]. 2021;35:1–24. Available from: <https://www.scielo.br/j/bor/a/4yFxpCdTNL4yzZsKrT4KWg/>
 12. González A, García A, García F. Salivary parameters and oral health status amongst adolescents in Mexico. *BMC Oral Health* [Internet]. 2020;20(1):1–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32631313/>
 13. Ministerio de salud del Perú. El 90.4% de los peruanos tiene caries dental[Internet]. 2019. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental>
 14. Huang S, Wu M, Li J, et al. The *dlt* operon contributes to the resistance to chlorhexidine in *Streptococcus mutans*. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2022;59(3). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857922000218>
 15. Cui T, Luo W, Xu L, et al. Progress of Antimicrobial Discovery Against the Major Cariogenic Pathogen *Streptococcus mutans*. *Curr Issues Mol Biol*. 2019;32:601–44.
 16. Suleria H, Barrow C, Dunshea F. Screening and characterization of phenolic

- compounds and their antioxidant capacity in different fruit peels. *Foods* [Internet]. 2020;9(9):1–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32882848/>
17. Maryati T, Nugroho T, Bachruddin Z, Pertiwiningrum A. Antibacterial effects of Kepok Banana bunch (*Musa paradisiaca* L.) against *Staphylococcus aureus*. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* [Internet]. 2021;637(1):6–10. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/637/1/012046>
 18. Oyeyinka BO, Afolayan A. Comparative and Correlational Evaluation of the Phytochemical Constituents and Antioxidant Activity of *Musa sinensis* L. And *Musa paradisiaca* L. Fruit Compartments (Musaceae). *Sci World J* [Internet]. 2020; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7428880/>
 19. Ranjha MMAN, Irfan S, et al. A Comprehensive Review on Nutritional Value, Medicinal Uses, and Processing of Banana. *Food Rev Int* [Internet]. 2020;38(2):199–225. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559129.2020.1725890>
 20. Oyeyinka BO, Afolayan A. Comparative and Correlational Evaluation of the Phytochemical Constituents and Antioxidant Activity of *Musa sinensis* L. And *Musa paradisiaca* L. Fruit Compartments (Musaceae). *Sci World J*. 2020;
 21. Gomes S, Vieira B, Barbosa C, Pinheiro R. Evaluation of mature banana peel flour on physical, chemical, and texture properties of a gluten-free Rissol. *J Food Process Preserv* [Internet]. 2022;46(8). Available from: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpp.14441>
 22. Ahmed O, Abd El-Twab S, Al-Muzafar H. *Musa paradisiaca* L. leaf and fruit peel hydroethanolic extracts improved the lipid profile, glycemic index and oxidative stress in nicotinamide/streptozotocin-induced diabetic rats. *Vet Med Sci* [Internet]. 2021;7(2):500–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33277985/>
 23. Checalla J. Efecto antibacteriana del extracto etanolico de propoleo sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) in vitro, Tacna 2020 [Internet]. Universidad Privada de Tacna; 2020. Available from: <https://repositorio.upt.edu.pe/handle/20.500.12969/1418>
 24. Kovacs C, Faustoferri R, Bischer A, Quivey R. *Streptococcus mutans* requires

mature rhamnase-glucose polysaccharides for proper pathophysiology, morphogenesis and cellular division. *Mol Microbiol* [Internet]. 2019;112(3):944–59. Available from:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31210392/>

25. Checalla J. Efecto antibacteriana del extracto etanolico de propoleo sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) in vitro, Tacna 2020. Universidad Privada de Tacna; 2020.
26. Pareja M, Pardo K, Jurado B. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara”, Fabaceae sobre bacterias de la biopelícula bucal. *Diagnóstico*. 2020;59(1):5–11.
27. Behiry S, Okla M, Alamri S, et al. Antifungal and Antibacterial Activities of *Musa paradisiaca* L. Peel Extract: HPLC Analysis of Phenolic and Flavonoid Contents. *Processes* [Internet]. 2019;7(4):1–11. Available from: <https://www.mdpi.com/2227-9717/7/4/215>
28. Sutanti V, Anugrah A. The Use of Yellow Kepok Banana Peel Extract (*Musa paradisiaca* L. var bluggoe) as an Antibacterial for Chronic Periodontitis Caused by *Porphyromonas gingivalis*. *J Smart Bioprospecting Technol* [Internet]. 2019;1(1):16–20. Available from: <https://jsmartech.ub.ac.id/index.php/jsmartech/article/view/5>
29. Fairuz A, Eva Z, Hasanuddin N, et al. Effectiveness of Pisang Raja Peel Extract (*Musa Paradisiaca* L) on Bacterial Growth of *Porphyromonas Gingivalis* as the Cause of Periodontitis. *Indian J Forensic Med Toxicol* [Internet]. 2022;16(1):237–43. Available from: <https://medicopublication.com/index.php/ijfmt/article/view/17459>
30. Cashpa C. Efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de la cascara inmadura de *Musa paradisiaca* L. (platano) sobre *Candida albicans* [Internet]. Universidad Católica Los Angeles-Chimbote; 2022. Available from: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/25771>
31. Orccohuaranca R. Efecto antibacteriana del extracto etanólico de la *Musa acuminata* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina [Internet]. Universidad Cesar Vallejo; 2020. Available from: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/60397>
32. Ortiz F, Mejia E, Espinoza M. Efecto antibacteriana de la *Musa acuminata* (Musaceae) frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Arnaldoa* [Internet].

- 2021;28(1):125–38. Available from:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2413-32992021000100125&script=sci_arttext#:~:text=La M.,y sobre biopelículas de E.
33. Hernandez R, Fernandez C, Baptista M. Metodología de la Investigación. 6ª edición. México: Mc Graw Hill; 2014.
 34. Cegarra J. Metodología de la investigación científica y tecnológica. 1st ed. Madrid: Diaz de Santos; 2004. 372 p.
 35. Carmelo V. Metodología de la investigación biomédica: Fundamentos. 1st ed. Buenos Aires: Webmastering; 2016. 249 p.
 36. Cegarra J. Metodología de la investigación científica y tecnológica. 1 edición. Diaz de Santos, editor. Madrid; 2004. 372 p.
 37. Pauer D, Park S, Roca M, Salazar A. Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima - Perú. *Horiz méd.* 2018;18(3):25–9.
 38. Montenegro A, Ramos D. Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *Porphyromonas gingivalis*. *Odontol Sanmarquina.* 2016;19(1):7–11.
 39. Loyaga M, Calla R, Calla R. Antifungal activity of peruvian banana peel (*Musa paradisiaca* L.) on *Candida albicans*: An in vitro study. *J Contemp Dent Pract* [Internet]. 2020;21(5):509–14. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32690832/>
 40. Valenzuela C, Gongora N, Dueñas M, Velazquez L, Ramos A, Valenzuela N. Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda. *Rev Colomb Cienc Quím Farm* [Internet]. 2019;48(1):94–111. Available from: <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80068>
 41. Caballero M, Meza N. Efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hamelia patens* Jacq. (Arco sacha) frente a la cepa de *Candida albicans* [Internet]. Universidad María Auxiliadora; 2022. Available from:
<https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/784>
 42. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad católica del Perú; 2016. 287 p.

43. Huayhua HJ, García RA. Efecto antimicrobiana de la tunta (*Solanum juzepczukii*) sobre la *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar *Typhimurium*. *Rev Investig Altoandinas - J High Andean Res.* 2021;23(1):37–46.
44. Rus CF, et al. Antifungal activity and chemical composition of *origanum vulgare* L. Essential oil. *Rev Chim.* 2016;67(11):2287–90.
45. Morocho G. Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Laboratorio Clínico MEDILAB-Loja. Universidad Nacional de Loja; 2018.
46. Kapadia S, Pudukalkatti P, Shivanaikar S. Detection of antimicrobial activity of banana peel (*Musa paradisiaca* L.) on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: An in vitro study. *Contemp Clin Dent [Internet].* 2015;6(1):496–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4678547/>
47. Brítez J. La Ética en investigaciones humanas y el Comité de Ética. *Rev virtual Soc Parag Med Int.* 2016;3(1):8–10.
48. Orcchuarancca R. Efecto antibacteriana del extracto etanólico de la *Musa acuminata* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina. Universidad Cesar Vallejo; 2020.
49. Morales A. Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólico y acuoso de la cáscara de plátano (*Musa paradisiaca* L.), frente a *Propionibacterium acnes* para su uso en la elaboración de un gel antiacné [Internet]. Universidad Politécnica Salesiana; 2020. Available from: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18804>
50. Bescos R, Ashworth A, Cutler C, Brookes Z, Belfield L, Rodiles A, et al. Effects of Chlorhexidine mouthwash on the oral microbiome. *Sci Rep [Internet].* 2020;1(1):1–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7093448/>
51. Jaimes Z, Tovar M. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2020. Available from: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/278>
52. Ortiz F, Mejia E, Espinoza M. Efecto antibacteriana de la *Musa acuminata*

(Musaceae) frente
2021;28(1):125–38.

al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Arnaldoa.

ANEXO A: Técnicas e instrumentos de recolección de datos



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

FICHA DE OBSERVACION DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE PLÁTANO DE SEDA (*Musa paradisiaca* L.) FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175”

TUBOS	SOLVENTES	RESULTADO
Tubo (1)	Éter de petróleo (1 ml)	
Tubo (2)	Diclorometano (1 ml)	
Tubo (3)	Cloroformo (1 ml)	
Tubo (4)	Butanol (1 ml)	
Tubo (5)	Etanol 96 (1 ml)	
Tubo (6)	Metanol (1ml)	
Tubo (7)	Agua destilada (1ml)	
Tubo (8)	Ácido acético (1ml)	
Tubo (9)	Etanol 70 (1ml)	

Leyenda:

- No soluble o Insoluble (-)
- Poco soluble (+)
- Mediana o moderadamente Soluble (++)
- Completamente soluble (+++)

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA PROFESIONAL DE

FARMACIA Y BIOQUIMICA FICHA DE OBSERVACION DE SCREENING

FITOQUIMICO

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE PLÁTANO DE SEDA (*Musa paradisiaca* L.) FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175”

Metabolitos Secundarios	Reactivo De Identificación	Resultado	Comentario
Alcaloides	Mayer		
	Wagner		
	Dragendorff		
Compuestos Fenólicos y Flavonoides	Shinoda		
	Cloruro férrico		
	Gelatina al 1%		
	Gelatina-sal		
Terpenos y esteroides	Liebermann-Burchard		
Antocianinas	Hidróxido de Sodio al 10%		
Antraquinonas	Reacción de Bortranger		
Lactonas α , β -insaturadas	Baljet		
Saponinas	Índice afrosimétrico		

Metabolitos Primarios	Reactivo de Identificación	Resultado	Comentario

Azúcares reductores	Fehling A y B		
	Benedict		

Leyenda:

- (-) La coloración o precipitado no se evidencia
- (+) La coloración o precipitado se evidencia poco
- (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente
- (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

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

FICHA DE OBSERVACION DEL ENSAYO MICROBIOLOGICO

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL
EPICARPIO DE PLÁTANO DE SEDA (*Musa paradisiaca* L.) FRENTE A CEPAS
DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175”

DETERMINACIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN FRENTE A CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175						
N o d e p l a c a	GR U P O 1 (B l a n c o)	GRU PO 2 Conc entra ción al 25%	GRU PO 3 Conc entra ción al 50%	GRU PO 4 Conc entra ción al 75%	GRU PO 5 Conc entra ción al 90%	G R U P O 6 Cl or he xi di na 0. 12 %
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

LEYENDA: Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)

- (-) Nula: Diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm)
- (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm)
- (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) al 25%, 50% 75% y 90% presentará actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) al 25%, 50%, 75% y 90% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) al 25%, 50%, 75% y 90% presenta actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Qué tipo de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana in vitro poseerá el extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.)?	Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.).	El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.
¿A qué concentración el extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) presentará actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Determinar a qué concentración el extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) presentará mayor actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) posee actividad antibacteriana a mayor concentración frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175

<p>¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) al 25%, 50%, 75% y 90% comparados con fármaco de referencia frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del epicarpio de plátano deseda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) al 25%, 50%, 75% y 90% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 comparados con el fármaco de referencia (Clorhexidina 0.12%).</p>	<p>El extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) al 25%, 50%, 75% y 90% presenta mejor actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 en</p>
--	---	---

		comparación con el fármaco de referencia(Clorhexidina 0.12%).
PROCEDIMIENTO PARA COLECTA DE DATOS		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Recolección de la muestra vegetal. 2. Certificación de la especie vegetal. 3. Prueba de solubilidad, marcha fitoquímica del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.). 4. Actividad antibacteriana del extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.). 5. Análisis y procesamiento de los datos. 		

Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto	Fracción líquida obtenida por maceración etanólica	Concentración del extracto	Tamizaje fitoquímico	Presencia de metabolitos secundarios	Nominal	Antocianinas Flavonoles Compuestos fenólicos	+++ Abundante +

etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.)	co, extraído del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.)	etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.)				Taninos Alcaloides Antraquinonas Azúcares reductores	+ + Moderado + + Leve + Escaso
			Concentración del extracto	Extracto etanólico al 25 % Extracto etanólico al 50 % Extracto etanólico	Int er va	25 % 50 % 75	P or c e nt

			al 75 % Extracto etanólico al 90 %	lo Di sc re ta	% 90 %	aj e
--	--	--	---	----------------------------	------------------	---------

VARIA BLES	DEFI NICIÓN CONC EPTU AL	DEFI NICIÓN OPER ACION AL	DIME NSIO NES	INDIC ADOR ES	E S C A L A D E M E D I C I ÓN	N° DE ÍTEM S	VA LO R
---------------	--------------------------------------	---------------------------------------	---------------------	---------------------	--	--------------------	---------------

<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> A TCC 25175</p>	<p>Es la capacidad de una sustancia de inhibir y/o eliminar el crecimiento de una cepa biológica bacteriana.</p>	<p>Sensibilidad bacteriana frente al extracto etanólico del epicarpio de plátano de seda (<i>Musa paradisiaca</i> L.) obtenida por medición del diámetro de los halos de inhibición</p>	<p>Microbiológico</p>	<p>Medición de diámetro de inhibición (mm)</p>	<p>Razón</p>	<p>Número de ensayos microbiológicos</p>	<p>(-) Nula: Diámetro (<8 mm) (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm) (++) Medio (muy</p>
--	--	---	-----------------------	--	--------------	--	--

		ón.					sen sibl e): Díá me tro (14 - 20 m m) (++ +) Su ma me nte sen sibl e): Díá me tro (> 20 m m)
--	--	-----	--	--	--	--	--

ANEXO D. Certificado Taxonómico



CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO, CBP 3796 - INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES DE IDENTIFICACION TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N.º 0311-2013-MINAGRI-06FFS-06EFTS.

CERTIFICA:

Que, las bachilleres **CUELLAR TELLO, ESTHEFANY JANETH** y **RIVERA GOMEZ, ZULEMA ISABEL**. Tesis de la Universidad María Auxiliadora. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, para desarrollar el proyecto de tesis titulado: **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE PLÁTANO DE SEDA (Musa paradisiaca L.) FRENTE A CEPAS DE Streptococcus mutans ATCC 25175**, han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta de plátano procedente del distrito de Querecotillo, provincia de Sullana, del departamento de Piura, donde es conocida con el nombre vulgar de “**plátano de seda**”; la muestra ha sido estudiada y determinada como **Musa x paradisiaca L.** Según la base de W³Tropicos del Missouri Botanical Garden que sigue el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), la especie identificada se ubican en las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae
División: Angiospermae
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Lillianaes
Orden: Zingiberales
Familia: Musaceae
Género: *Musa*
Especie: *Musa x paradisiaca L.*

Nombre vulgar: “plátano de seda”

Se expide la presente certificación botánica para fines de investigación científica.

Lima, 22 de octubre del 2022



Jr. Sánchez Silva 156 – Piso 2 – Urb. Santa Luzmila – Lima 07 - Lima

ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

Informe de Resultados

Solicitado por: Cuellar Tello, Esthefany Janeth
Rivera Gómez, Zulema Isabel

Muestra: Extracto epicarpio de plátano de seda (*Musa paradisiaca L.*)

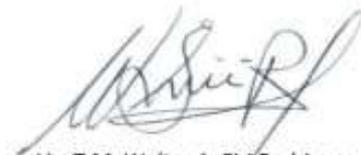
Cantidad: 25.6 gr

Fecha de ensayo: 12-10-2022

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm					
	90%	75%	50%	25%	Clorhexidina 0.12%	Etanol 70°
<i>Streptococcus mutans ATCC 25175</i>	8.89	7.81	6	6	19.90	6
	8.85	7.82	6	6	19.94	6
	8.90	7.85	6	6	19.99	6
	8.87	7.82	6	6	20.06	6
	8.91	7.86	6	6	19.99	6
	8.86	7.80	6	6	19.98	6
	8.90	7.85	6	6	19.98	6
	8.86	7.80	6	6	19.90	6
	8.87	7.79	6	6	19.96	6
	8.89	7.80	6	6	19.94	6

*Tamaño de pozo: 6mm; por lo que al reportarse 6 mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

*Concentración del inóculo: 1.5×10^8 UFC/mL



Lic. T.M. Walter A. Sirj Rodriguez
CTMP. 10808

Jr. Comercio N° 597 Pachacámac Telf. 2311053 Cel. 941708196- 993446913

ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton

HIMEDIA [®]		Certified : ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , WHO GMP				
<p>HiMedia Laboratories Private Limited 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com</p>						
<i>Certificate of Analysis, Quality and Conformity</i>						
Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000357521				
Report No.: 040000849057	Date of Release & Report : 2018-09-24	Expiry Date : 2023-09				
<p>Appearance Cream to yellow homogeneous free flowing powder . Observed : Light yellow</p>						
<p>Gelling Firm, comparable with 1.7% agar gel.</p>						
<p>Colour and Clarity of prepared medium Light amber coloured clear to slight opalescent gel forms in Petri plates.</p>						
<p>Reaction Reaction of 3.8% w/v aqueous solution at 25°C.</p>						
<p>pH pH Range :7.20-7.40 Observed : 7.39</p>						
<p>Cultural Response Cultural characteristics observed after incubation at 30-35°C for 18 -24 hours for bacterial cultures. For testing <i>S.pneumoniae</i> : The medium was supplemented with 5% Sheep blood and incubated at 35°C for 16-18 hours at 5% CO2 For testing <i>H.influenzae</i> : Yeast extract & 2 vials of <i>Haemophilus Growth Supplement</i> (FD117 containing 15 mg/l of Haematin + 15 mg/l of NAD) and incubated at 35°C for 20-24 hours at 5% CO2</p>						
<p>Antibiotic Sensitivity test Various discs were tested for standard ATCC strains and zone of inhibition were measured after an incubation 30-35°C for 18 hours. (As per the latest CLSI Protocol M6 & Standards as per the current CLSI M100)</p>						
<p>Thymine/Thymidine Content # The zones for these discs are indicative of the Thymine/Thymidine content of the medium.</p>						
<p>Divalent Cation Content * The zones for these discs are indicative of the Divalent Cation content of the medium</p>						
Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Observed Lot value (CFU)	Recovery	Standard Zone	Zone of inhibition Observed
Escherichia coli ATCC 25922						
<i>Growth promoting</i>	85	luxuriant	72	84%	-	-
<i>Amoxiclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	22mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	16-22 mm	21mm
<i>Cefotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	29-35 mm	33mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	15-21 mm	20mm

PAGE : 1/4

HiMedia Laboratories Private Limited
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,
 Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,
 Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000357521
Report No.: 040000849057	Date of Release & Report : 2018-09-24	Expiry Date : 2023-09

<i>Chloramphenicol C 30 mcg</i>	-	-	-	-	21-27 mm	26mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	30-40 mm	38mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg</i>	-	-	-	-	19-26 mm	24mm
<i>Sulphafurazole SF 300 mcg</i>	-	-	-	-	15-23 mm	21mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-25 mm	24mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm

Staphylococcus aureus ATCC 25923

<i>Growth promoting</i>	76	luxuriant	64	84%	-	-
<i>Amoxyclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	28-36 mm	35mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	36mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	35mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	29mm
<i>Erythromycin E 15 mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	28mm
<i>Linezolid LZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	25-32 mm	31mm
<i>Oxacillin OX 1mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	23mm
<i>Pristinomyin RP 15 mcg</i>	-	-	-	-	21-28 mm	27mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-21 mm	20mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	24-32 mm	31mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

<i>Growth promoting</i>	83	luxuriant	71	85%	-	-
<i>Amikacin AK 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-26 mm	25mm
<i>Aztreonam AT 3mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm
<i>Cephotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-22 mm	21mm
<i>Ceftazidime CAZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	22-29 mm	27mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	31mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg *</i>	-	-	-	-	16-21 mm	20mm
<i>Imipenem IPM 10 mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	31mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Tobramycin TOB 10 mcg *</i>	-	-	-	-	19-25 mm	23mm

Escherichia coli ATCC 35218

HiMedia Laboratories Private Limited
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,
 Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,
 Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000357521
Report No.: 040000849057	Date of Release & Report : 2018-09-24	Expiry Date : 2023-09

<i>Growth promoting</i>	75	luxuriant	63	84%	-	-
<i>Amoxiclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-22 mm	21mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	13-19 mm	18mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	12-18 mm	16mm
<i>Piperacillin/Tazobactam PIT 100/10 mcg</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Ticarcillin TI 75 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	21-25 mm	23mm

Enterococcus faecalis ATCC 29212

<i>Growth promoting</i>	69	luxuriant	58	84%	-	-
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm (Clear zone)	23mm
<i>Trimethoprim TR 5 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm	21mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	# 17 mm	22mm

Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA)

<i>Growth promoting</i>	88	luxuriant	76	86%	-	-
<i>Oxacillin OX 1 mcg</i>	-	-	-	-	Very Hazy to No Zone	No zone

Streptococcus pneumoniae ATCC 49619 (On Medium with 5% Sheep Blood)

<i>Growth promoting</i>	80	luxuriant	69	86%	-	-
-------------------------	----	-----------	----	-----	---	---

Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226 (Incubated w/5% CO2)

<i>Growth promoting</i>	71	luxuriant	63	88%	-	-
-------------------------	----	-----------	----	-----	---	---

Haemophilus influenzae ATCC 49247 (On medium w/ Y.E.,NAD & Hematin)

<i>Growth promoting</i>	84	luxuriant	72	85%	-	-
-------------------------	----	-----------	----	-----	---	---

- . ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection
- . NCTC and National Collection of Type Culture are registered trade mark of the Health Protection Agency

Control Media :

- . For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
- . For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.

- . All ISO 11133 : 2014(E) control strains are included in the Quality parameter
- . HiMedia Laboratories Pvt Ltd is Certified for ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , WHO GMP

HiMedia Laboratories Private Limited
23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,
Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,
Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000357521
Report No.: 040000849057	Date of Release & Report : 2018-09-24	Expiry Date : 2023-09

. Information for BSE/TSE Risk: The material was subjected to pH \leq 7.0 and/or a temperature in excess of 75°C for no less than 2 hours during the manufacturing process. The bovine raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed based establishment. The animals are inspected under a Govt. approved veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy)/ TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) and dioxine are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific risks material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED

This is to certify that this lot passes and it conforms to the above mentioned tests and specifications . The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particulars use, other than that specified in the current HiMedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

This document has been produced electronically and is valid



Sheetal Shewale
Microbiologist/Sr.Executive
Microbiologist



Urvashi M. Kokate
Asst/Dy/QC Manager



Dr. Santosh Kaul
Dy/QA Manager

24.09.2018

ANEXO G. Certificado de análisis de Cepa *Streptococcus mutans*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-34** Reference Number: ATCC® 25175™** Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2023/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Madison C Vogt Release Date: 2021/9/16
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	Method: Gram Stain (1)

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 this certificate is the actual base lot number.

⚠ 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.

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



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 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.

Run Creation Date/Time: 2021-09-15T11:17:25.874 MCV

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D10 (+++) (A)	266-34	Streptococcus mutans	2.05

Comments:

N/A

ANEXO H. Evidencias fotográficas TRATAMIENTO DE LA MUESTRA



Figura 2. Muestra de tipo plátano de seda (*Musa paradisiaca* L.)



Figura 3. Selección de la fruta



Figura 4. Lavado de la muestra



Figura 5. Trozado de la muestra



Figura 6. Procedimiento de secado de la muestra



Figura 7. Procedimiento de molienda de la muestra



Figura 8. Preparación del macerado del extracto etanólico



Figura 9. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico



Figura 10. Proceso de vertido en placas



Figura 11. Obtención de extracto seco

PRUEBA DE SOLUBILIDAD



Figura 12. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad



Figura 13. Agitación en el vortex

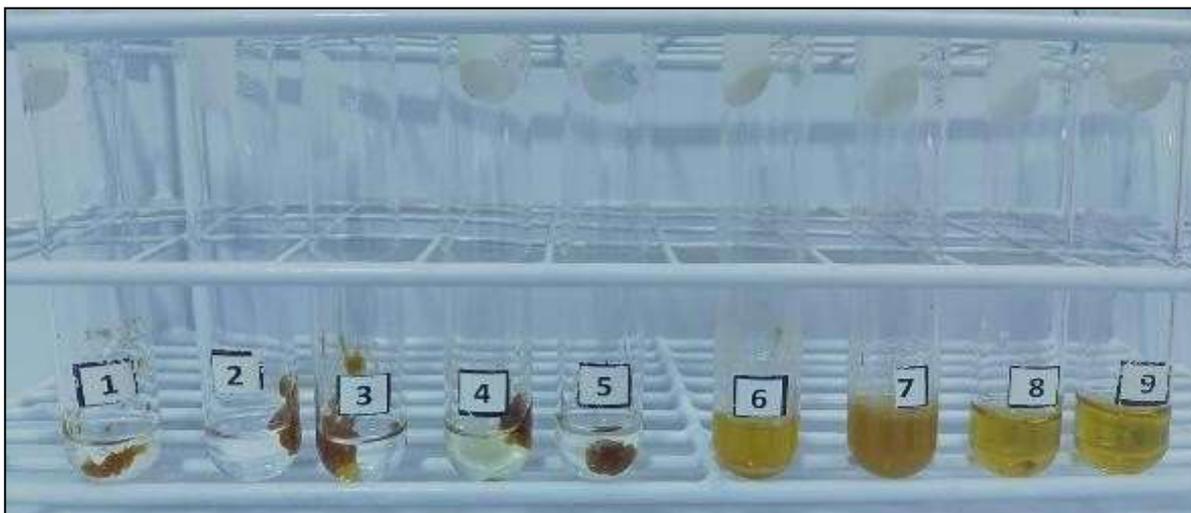


Figura 14. Resultado de prueba de solubilidad

MARCHA FITOQUÍMICA



Figura 15. Adición de extracto a los tubos de ensayo



Figura 16. Adición del reactivo en la marcha fitoquímica

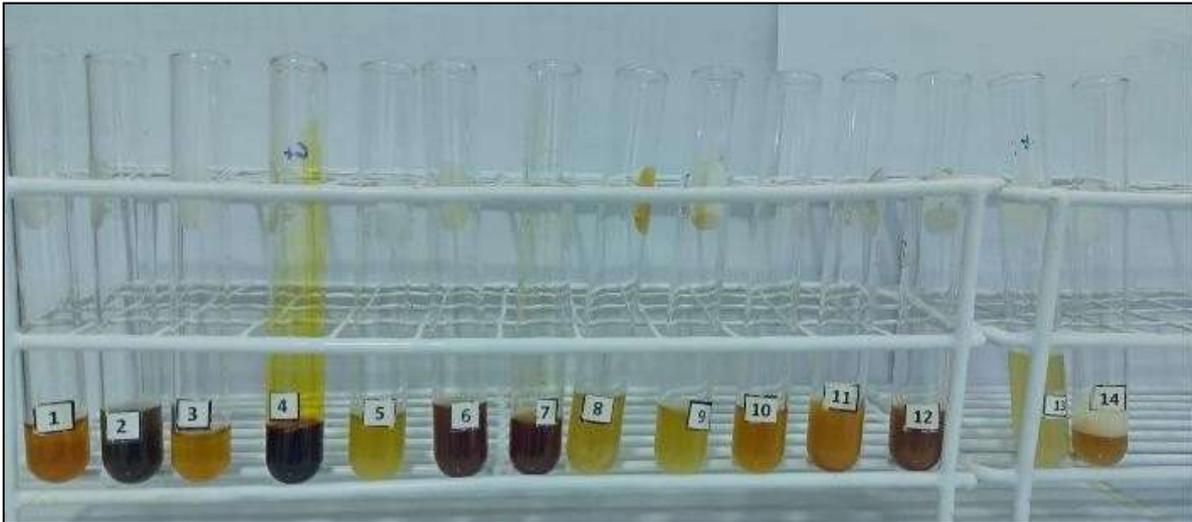


Figura 17. Resultado de la marcha fitoquímica

ENSAYO MICROBIOLÓGICO



Figura 18. Pesado del Agar



Figura 19. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica



Figura 20. Agar Mueller Hinton + sangre de carnero



Figura 21. Placas preparadas

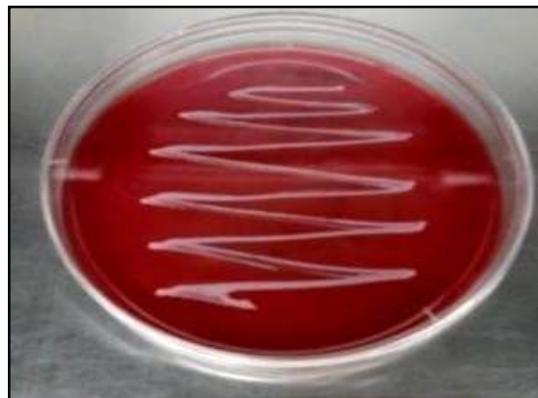


Figura 22. Cepa biológica de tipo: *Streptococcus mutans* ATCC 25175

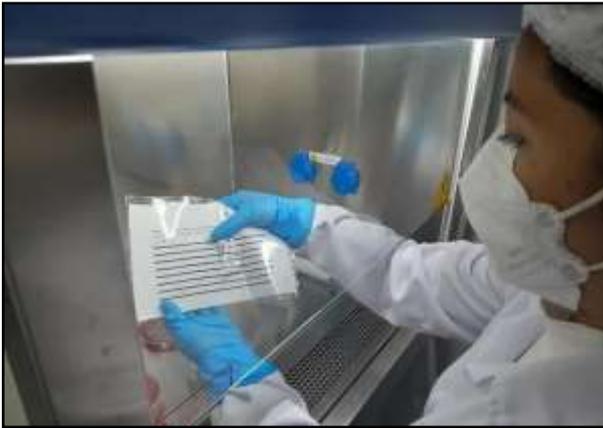


Figura 23. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mac. Farland.



Figura 24. Rotulado de placas



Figura 25. Sembrado de la cepa biológicas en las placas



Figura 26. Efectuando pozos en agar con ayuda de un sacabocado



Figura 27. Sustancias experimentales y controles



Figura 28. Adición de la sustancia experimental en la placa Petri



Figura 29. Incubación

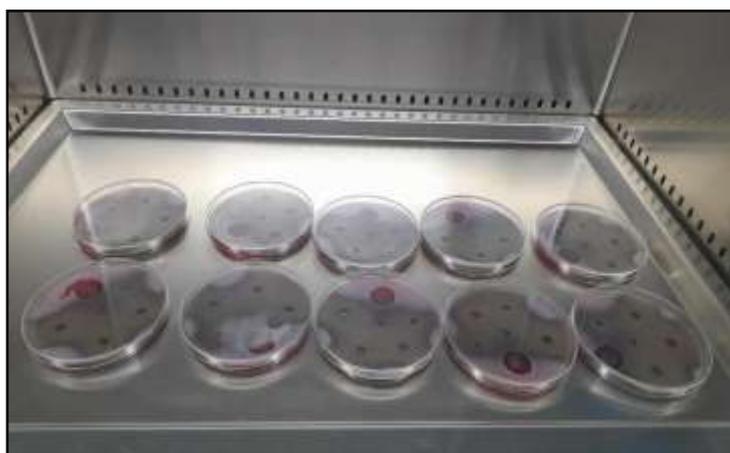


Figura 30. Placas Petri con halos de inhibición

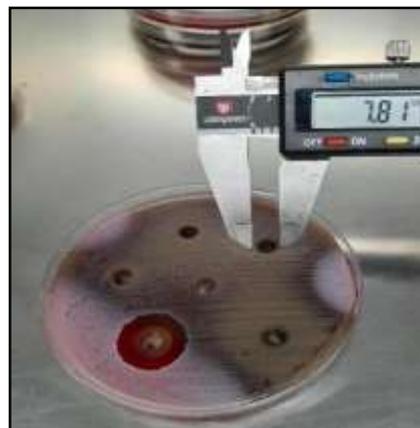
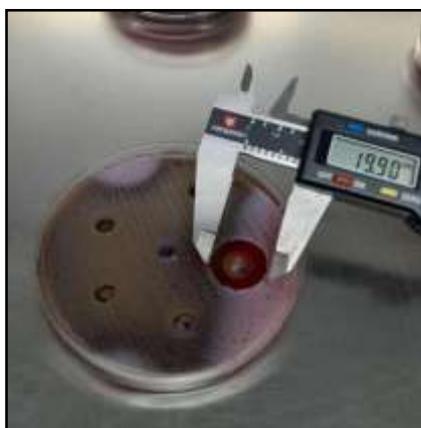


Figura 31. Lectura de resultados

ANEXO I. Porcentaje de rendimiento

Determinación del porcentaje de rendimiento

Tenemos la cantidad de producto obtenido en la extracción química.

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Dónde: %E = porcentaje de rendimiento

Pf = peso final (extracto seco)

Pi = peso inicial (muestra molida)

Fuente: Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometanode *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda

<http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v48n1/0034-7418-rccqf-48-01-94.pdf>

Extracción por maceración

$$\%E = \frac{25.6 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 100 = 12.8\%$$

Pf= 25.6 gr extracto seco obtenido
Pi = 200 gr. muestramolida

ANEXO J. Certificado de sangre de carnero

	<h1>Certificado de Análisis</h1>	Fecha de Emisión 10/10/2022
---	----------------------------------	--------------------------------

Código Producto: SC001

Descripción: Sangre de Carnero, Estéril.

Lote: B01519

Fecha de Colección: 07/10/2022

Fecha de Vencimiento: 07/11/2022

El producto fue colectado empleando técnica aséptica y se comprobó la esterilidad por cultivo en medio nutritivo.



Luis Alvarado Rios
QTMP 6765