



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACTIVIDAD **ANTIFÚNGICA** *in vitro* DE LOS EXTRACTOS
ETANÓLICO y METANÓLICO DE RIZOMA DE *Curcuma longa* L.
(PALILLO) FRENTE A *Candida albicans* ATCC 90028 Y
Aspergillus niger ATCC 6275

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORAS

Bach. HUAMÁN HUAMÁN, LUZ MARINA <https://orcid.org/0009-0008-4784-8590>

Bach. MUÑOZ QUISPE, RUTH GABRIELA <https://orcid.org/0009-0002-1112-7376>

ASESORA

Mg. BRAVO ARAUJO, GLORIA TULA

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

Lima – Perú

2023

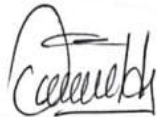
AUTORIZACION Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **LUZ MARINA HUAMAN HUAMAN**, con DNI: **46527071** en mi condición de autor de mi TESIS presentada para optar el **TITULO PROFESIONAL de QUIMICO FARMACEUTICO** de título "**ACTIVIDAD ANTIFUNGICA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS Y METANOLICOS DE RIZOMA CURCUMA LONGA (PALILLO) FRENTE A Candida albicans ATCC 90028 Y Aspergillus niger ATCC 6275**", **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.

Asi mismo **DECLARO BAJO JURAMENTO** que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud del **19 %** 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, 1 de Abril 2024.



Luz Marina Huaman Huaman

Firma del autor:



Gloria Tula Bravo Araujo

Firma del Asesor:

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

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

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Ruth Gabriela Muñoz Quispe, con DNI: 71810333 en mi condición de autor de mi TESIS presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de QUIMICO FARMACEUTICO de título "ACTIVIDAD ANTIFUNGICA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS Y METANOLICOS DE RIZOMA CURCUMA LONGA (PALILLO) FRENTE A *Cándida albicans* ATCC 90028 Y *Aspergillus niger* ATCC 6275", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO** que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud del DIECIENUEVE (19%) y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

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

Lima, 01, de Abril_2024.



Ruth Gabriela Muñoz Quispe

Firma del autor:



Gloria Tula Bravo Araujo

Firma del Asesor:

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

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

INFORME DE ORIGINALIDAD – TURNITIN

INFORME FINAL_HUAMAN_Y_MUÑOZ_1_2024

TESIS DE PREGRADO

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%	19%	2%	13%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	4%
2	Submitted to Universidad Nacional de Cañete Trabajo del estudiante	2%
3	repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet	2%
4	Submitted to Universidad Catolica de Trujillo Trabajo del estudiante	2%
5	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	www.repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	rpmesp.ins.gob.pe Fuente de Internet	1%
8	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
9	repositorio.ufgd.edu.br Fuente de Internet	1%

10	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1 %
11	repositorio.utc.edu.ec Fuente de Internet	1 %
12	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	1 %
13	vsip.info Fuente de Internet	1 %
14	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	1 %
15	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	1 %
16	repositorio.upads.edu.pe Fuente de Internet	1 %

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 1%

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios por proporcionarme la solidez y el coraje para seguir luchando por mis metas; a mi madre, por apoyarme en todo este camino de mi vida académica para seguir creciendo profesionalmente día a día y confiando en mí, por sus nobles lecciones y su incondicional soporte día tras día; a mis hermanos, que me cuidan y guían. A todas las personas que me ayudaron a seguir desarrollándome.

Huamán Huamán, Luz Marina

A toda mi familia, especialmente a mis padres, Juan y Guillermina, por su comprensión y ayuda en momentos malos y buenos. Me han enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento, me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios y perseverancia, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio.

Muñoz Quispe, Ruth Gabriela

AGRADECIMIENTO

A mis progenitores, por la paciencia y apoyo en los días importantes que no pude estar con ellos.

A mi docente Q.F Carlos Ángel Murga Casas que está en el cielo descansando en paz con nuestro Señor Dios que desde el inicio de mi carrera me brindó su apoyo en todo momento impulsándome a seguir con mi carrera profesional de Farmacia y Bioquímica, le agradezco a él por todos sus conocimientos compartidos con mi persona, sé que donde está ahora se sentiría orgulloso de mí.

Huamán Huamán, Luz Marina

A Dios por haberme otorgado a una familia maravillosa, quienes han creído en mí siempre.

A mis padres: Juan y Guillermina que son ejemplo de superación, humildad y sacrificio, enseñándome a valorar todo lo que tengo.

A mi hermano: Juan Guillermo que ha fomentado en mí el deseo de superación y triunfo en la vida.

A todos mis docentes que han contribuido a la consecución de este logro.

Muñoz Quispe, Ruth Gabriela

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN	Vi
ABSTRACT	Vii
I. INTRODUCCIÓN	8
II. MATERIALES Y MÉTODOS	15
II.1 Enfoque y diseño de la investigación	15
II.2 Población, muestra y muestreo	16
II.3 Variables de la investigación	17
II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	17
II.5 Procedimientos para la recolección de datos	17
II.6 Métodos de análisis estadístico	22
II.7 Aspectos éticos	23
III. RESULTADOS	24
IV. DISCUSIÓN	41
IV.1 Discusión de resultados	41
IV.2 Conclusiones	42
IV.3 Recomendaciones	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXOS	51
ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos	52
ANEXO B: Matriz de consistencia	56
ANEXO C: Operacionalización de las variables	58
ANEXO D: Evidencias fotográficas del trabajo de campo	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de <i>Curcuma longa</i> L.	24
Tabla 2. Marcha Fitoquímica del extracto metanólico de <i>Curcuma longa</i> L.	25
Tabla 3. Resultados promedio sobre la actividad antifúngica del extracto etanólico de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275	26
Tabla 4. Resultados promedio sobre la actividad antifúngica del extracto metanólico de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.	27
Tabla 5. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk (extracto etanólico).	31
Tabla 6. Prueba de homocedasticidad de varianza del extracto etanólico de rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.	32
Tabla 7. Prueba de ANOVA de los halos de inhibición del extracto etanólico del palillo frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.	33
Tabla 8. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición del extracto etanólico del palillo frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.	34
Tabla 9. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk (extracto Metanólico).	36
Tabla 10. Prueba de homocedasticidad de varianza del extracto metanólico de rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.	37
Tabla 11. Prueba de ANOVA de los halos de inhibición del extracto metanólico del palillo frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.	38
Tabla 12. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición del extracto metanólico del palillo frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.	39

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad **antifúngica** *in vitro* de los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Material y métodos: Enfoque cuantitativo, diseño experimental, transversal. Los extractos se obtuvieron mediante la técnica de maceración, a los cuales se realizó el tamizaje fitoquímico para comprobar la presencia de metabolitos secundarios. Se aplicó la técnica de Kirby Bauer para evaluar la actividad antifúngica trabajando los extractos metanólico y etanólico en concentraciones al 25%, 50%, y 75% sobre *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275y comparándolo con fluconazol como control.

Resultados: En los extractos etanólico y metanólico de *Curcuma longa* L., se encontraron antocianinas, alcaloides, lactonas, taninos y fenoles, asimismo moderada presencia de flavonoides y leve presencia de triterpenos. El extracto metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo), en las concentraciones del 25 %, 50% y 75% para la cepa de *Candida albicans* ATCC 90028, tiene actividad **antifúngica** sumamente sensible. El extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo), en las concentraciones del 25 %, 50% y 75% para la cepa de *Aspergillus niger* ATCC 6275, tiene actividad **antifúngica** sumamente sensible; mientras que con Fluconazol resultó muy sensible para ambos extractos en el rangode 14.70 – 19.92 mm.

Conclusiones: Los extractos metanólico y etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) tienen actividad **antifúngica** sumamente sensible *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 respectivamente.

Palabras clave: *Candida albicans* ATCC 90028, *Aspergillus niger* ATCC 6275, extractos alcohólicos, actividad **antifúngica**, *Curcuma longa* L.

ABSTRACT

Objective: It was to evaluate the in vitro antifungal activity of the ethanolic and methanolic extracts of the rhizome of *Curcuma longa* L. (palillo) against *Candida albicans* ATCC 90028 and *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Material and methods: Quantitative approach, experimental design, transversal. The extracts were obtained by the maceration technique, to which the phytochemical screening was carried out to verify the presence of secondary metabolites. The "Kirby Bauer" technique was applied to evaluate the antifungal activity working on the methanolic and ethanolic extracts at concentrations of 25%, 50%, and 75% on *Candida albicans* ATCC 90028 and *Aspergillus niger* ATCC 6275 and compared with fluconazole as a control.

Results: In the ethanolic and methanolic extracts of *Curcuma longa* L., anthocyanins, alkaloids, lactones, tannins and phenols were found, as well as a moderate presence of flavonoids and a slight presence of triterpenes. The Methanolic Extract of *Curcuma longa* L. rhizome (palillo), in concentrations of 25%, 50% and 75% for the strain of *Candida albicans* ATCC 90028, has highly sensitive antifungal activity. The ethanolic extract of *Curcuma longa* L. rhizome (palillo), in concentrations of 25%, 50% and 75% for the *Aspergillus niger* ATCC 6275 strain, has highly sensitive antifungal activity; while with Fluconazole it was very sensitive for both extracts in the range of 14.70 – 19.92 mm.

Conclusions: The methanolic and ethanolic extracts of the rhizome of *Curcuma longa* L. (palillo) have highly sensitive antifungal activity in vitro against *Candida albicans* ATCC 90028 and *Aspergillus niger* ATCC 6275 respectively.

Keywords: *Candida albicans* ATCC 90028, *Aspergillus niger* ATCC 6275, alcoholic extracts, antifungal activity, *Curcuma longa* L.

INTRODUCCIÓN

La *Cándida albicans* es un hongo diploide asexual y saprofito, habitualmente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina. Es uno de los oportunistas que causa infecciones en los inmunocomprometidos como los pacientes con VIH. Por muchos años, el tratamiento para infecciones producidas por hongos ha sido el fluconazol. El problema del tratamiento con este fármaco radica en que recientemente se ha evidenciado resistencia al fluconazol en especies de *Cándida albicans* y otros patógenos fúngicos¹.

Por otro lado, el género *Aspergillus* incluye hongos filamentosos, algunos de ellos patógenos oportunistas. En la actualidad, se conoce que muchas especies de *Aspergillus spp.*, son causantes de enfermedades en la población que tiene como factores de riesgo la inmunosupresión por tratamiento con corticosteroides, quimioterapia, radioterapia, con anticuerpos monoclonales (anti-TNF). Las formas clínicas de las enfermedades son la aspergilosis invasiva, aspergilosis crónica pulmonar, la aspergilosis broncopulmonar y la aspergilosis cerebral. Las formas invasivas son generadas por *A. fumigatus*, seguido de *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*. En casos de pacientes inmunosuprimidos se ha ampliado las formas patógenas a otras especies como *A. nidulans*, y otros². Por la evidencia de la resistencia del fluconazol a cepas de hongos oportunistas no se puede utilizar como profilácticos en pacientes inmunocomprometidos³.

Debido a las fallas en el tratamiento con antifúngicos clásicos, se han desarrollado nuevos fármacos como las equinocandinas que cubre a especies de *Candida* y *Aspergillus*; sin embargo, estos fármacos presentan efectos adversos importantes como la cefalea, fiebre, efectos tóxicos hepáticos, flebitis, reacciones de liberación de histamina, hemolisis y RASH⁴. Ante esta situación, la investigación se ha orientado hacia la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento, siendo uno de estos el uso de recursos vegetales con actividad **antifúngica**. Diversos autores han evidenciado el efecto de extractos de vegetales en especies de hongos como *Fusarium spp.*, *Trichophyton spp.* y *Geotrichum spp.*⁵, asimismo, contra *A. niger*, y *C. albicans*⁶.

El uso de recursos vegetales medicinales ha ganado popularidad a nivel mundial en los últimos años, debido a que la medicina convencional cada vez es menos eficiente para las infecciones, ya que la mayoría de los microorganismos han desarrollado resistencia, y además tienen efectos adversos importantes que aumenta con el uso indiscriminado e incorrecto; asimismo, la población no tiene acceso a los diversos medicamentos por su elevado costo o disponibilidad por lo cual extractos alcohólicos de recursos vegetales podría generar alguna solución⁷.

Según la situación problemática planteada se formula la siguiente pregunta:

- ¿Los extractos etanólico y metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) tendrán actividad **antifúngica** *in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275?

Asimismo, genera las siguientes subpreguntas:

- ¿Qué tipo de metabolitos secundarios presentarán los extractos etanólico y metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo)?
- ¿Cuáles serán las concentraciones del extracto etanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) con actividad **antifúngica** *in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275?
- ¿Cuáles serán las concentraciones del extracto metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) con actividad **antifúngica** *in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275?
- ¿Los extractos etanólicos y metanólicos del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) a concentraciones definidas anteriormente poseerán actividad **antifúngica** *in vitro* superior al fluconazol frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275?

El rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) fue utilizado en la medicina ayurvédica de la India desde tiempos inmemoriales, los curcuminoides que contienen ejercen una variedad de efectos muy bien documentados los cuales incluyen propiedades como antioxidantes, antiinflamatorios, antígenotóxicos, antitumorales, actividad

antimicótica y recientemente antifúngica, también se utiliza como colorante en alimentos⁸.

El palillo es un tipo de hierba que forma parte de la familia del “jengibre”, se cultiva extensamente en la región tropical del sur y sureste asiático. La cúrcuma es un ingrediente importante en las cocinas de Irán, Malasia, India, China, Polinesia y Tailandia, se usa como especia y tiene un efecto sobre el aroma, el color y el sabor de los alimentos. También se conoce que la cúrcuma se ha utilizado durante siglos en la India y China para el tratamiento de afecciones dermatológicas, infecciones, estrés y depresión⁹. Los efectos de la cúrcuma en la salud se le atribuye a una sustancia polifenólica lipofílica de color amarillo anaranjado llamada "curcumina", que se encuentra en cantidades importantes en el rizoma. La curcumina destaca por tener efectos antioxidantes, antiinflamatorios, y anticancerígenos, por estas propiedades se utilizan en la prevención y el tratamiento de enfermedades que van desde el cáncer hasta las enfermedades autoinmunes, neurológicas, cardiovasculares y diabética¹⁰. Por otro lado, también su uso ha sido recopilado en diversos manuales europeos para el tratamiento de infecciones de la piel, enfermedades hepáticas, dispepsia, ictericia, infecciones hepáticas y como antitumoral, antimutagénico y relajante muscular¹¹⁻²¹.

Los extractos etanólicos y metanólicos son preparados que se elaboran bajo la forma de macerados que permiten extraer metabolitos secundarios. Entonces al elaborar los extractos con los rizomas de cúrcuma se obtendrán la mayor cantidad de metabolitos secundarios con actividad farmacológica²²⁻²⁴.

La actividad **antifúngica** de un extracto se evalúa a nivel de laboratorio. En primer lugar, se realizan los cultivos de las cepas de hongos donde se prueban los extractos y luego se comparan con un control que generalmente es un fármaco estándar²⁵⁻³².

Los antecedentes que se disponen en el trabajo de investigación son:

A nivel Nacional, Sáenz L., et al. (2022), estudiaron el efecto antifúngico *in vitro* de extracto etanólico del rizoma de *Curcuma longa* L., sobre *Candida albicans* ATCC 10231. Los

resultados evidenciaron que el extracto etanólico de la cúrcuma presentó efecto inhibitorio sobre la cepa en estudio a partir de la concentración de 50%²⁵. La diferencia con el presente trabajo se establece en el tipo de cepa ATCC, por lo cual se establece un análisis comparativo posterior a los resultados obtenidos.

Espinoza A., et al (2017), evaluaron el efecto antimicrobiano *in vitro* de la *Curcuma longa* L. (palillo) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. En la identificación fitoquímica se halló curcuminoides, terpenos, taninos y flavonoides. El efecto antimicrobiano de la *Curcuma longa* L. (palillo) se evaluó por el método de dilución en tubo, obteniendo como resultado la concentración inhibitoria mínima (CIM) ($27,78 \pm 2,64$) mg/mL para las cepas clínicas de *Candida albicans*. Se concluyó que el extracto etanólico de *Curcuma longa* L. (palillo) tiene efecto antimicrobiano frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*²⁶.

Flores A. (2017), evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Curcuma longa* sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, utilizándose concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% del extracto hidroalcohólico, además de fármacos controles (Vancomicina y Fluconazol). Se evidenció que a todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico tuvo efecto antimicrobiano, para *Staphylococcus aureus* la CIM fue de 10 mg/mL, mientras que para *Candida albicans* fue de 2,5 mg/mL. Se presentó mayor efecto antimicrobiano sobre *Candida albicans* que *Staphylococcus aureus*. El extracto hidroalcohólico del rizoma de *Curcuma longa*, presenta actividad antimicrobiana *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*²⁷.

Quispe K. (2020), estudió el efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico de la cúrcuma (*Curcuma longa*) frente a *Candida albicans*. La muestra de rizomas fue recolectada en un mercado. Para el ensayo de actividad antifúngica se utilizó el método de difusión en disco. El extracto de cúrcuma presentó efecto inhibitorio frente a *Candida albicans*, siendo su CMI de 33 %²⁸.

Dentro del contexto Internacional, se tomó la Investigación de **AL-Masoodi H., et al. (2020)** investigaron el efecto del extracto metanólico y clorofórmico de dos plantas medicinales que son *Curcuma longa* L. y *Boswellia carteri* Birdwood en especies de *Fusarium* aisladas de semillas de maíz. Los extractos de *Curcuma longa* L. y *Boswellia carteri* Birdwood mostraron una reducción significativa a $p \leq$

0.05 en el crecimiento de las especies de *Fusarium*, especialmente a 10 mg/ml en comparación con el control negativo dimetilsulfóxido(10% DMSO)²⁹.

Kasta G. (2020), determinó que la concentración del extracto etanólico de cúrcuma de rizoma es activo contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. El tamizaje fitoquímico mostró que el extracto etanólico de rizoma de cúrcuma contiene alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y triterpenoides/esteroides. La inhibición antimicrobiana del extracto etanólico de rizoma de cúrcuma contra *E. coli*, *S. aureus* y *C. albicans* a una concentración de 500 mg/mL tuvo un diámetro de 15,7 mm, 15 mm y 15,18 mm con una categoría fuerte³⁰.

Abdelgaleil S., et al. (2019) evaluaron las actividades insecticidas y antifúngicas de extractos de rizoma de *Curcuma longa* L. Los rizomas de *C. longa* se maceraron con n-hexano, cloruro de metileno, metanol y agua, sucesivamente. Los extractos mostraron actividad antifúngica variable frente a hongos fitopatógenos como el *Fusarium oxysporum*, *Pythium debaryanum*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium solani* y *Alternaria alternata*. El extracto metanólico tuvo la actividad antifúngica más alta entre los extractos con valores de EC₅₀ de 159,8, 242,7 y 322,2 mg L⁻¹ en *P. infestans*, *F. solani* y *A. alternata*, respectivamente ³¹.

Chen Ciqiong., et al. (2018) determinaron el espectro antifúngico del extracto alcohólico de *Curcuma longa* y los valores EC₅₀ resultantes (mg/mL) de su extracto en once hongos, incluidos el *Fusarium graminearum*, *Fusarium chlamydosporum*, *Alternaria alternate*, *Fusarium tricinctum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *Rhizopus oryzae*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum higginsianum*³².

Los resultados mostraron que el extracto etanólico de *Curcuma longa* puede interrumpir la síntesis de proteínas y enzimas críticas, lo que en última instancia

puede inhibir el crecimiento de hongos. Se encontró que los efectos antifúngicos estaban relacionados con la interrupción de los sistemas de membrana celular fúngica, específicamente la inhibición de la síntesis de ergosterol y la cadena respiratoria³².

El estudio se justifica debido a la alta prevalencia e incidencia de las infecciones por hongos patógenos y oportunista en la población es un problema de salud pública que afecta principalmente a la población con problemas de baja en las defensas como en VIH, diabetes, tratamiento con corticoesteroides, quimioterapia, etc. Por otro lado, se ha evidenciado una resistencia emergente a los antimicóticos clásicos como el fluconazol. Estas situaciones han generado el interés de la búsqueda de recursos vegetales con efectos antifúngicos.

La importancia de este estudio es obtener evidencia de fuentes naturales para el tratamiento de infecciones por hongos, lo que beneficiará a la población con factores de riesgo de sufrir las diferentes formas de infección por los hongos.

Para la realización del trabajo de investigación se dispuso de los profesionales de la especialidad, el equipo y material de laboratorio, así como los insumos para la realización del trabajo.

El objetivo general del estudio fue evaluar la actividad *antifúngica in vitro* de los extractos etanólico y metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Los objetivos secundarios fueron:

- Identificar los metabolitos *secundarios con actividad antifúngica* presentes en los extractos etanólico y metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo)
- Determinar las concentraciones del extracto etanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) *que* presentarán mayor actividad *antifúngica in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.
- Determinar las concentraciones del extracto metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) *que* presentarán mayor actividad *antifúngica in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

- Comparar la actividad **antifúngica** *in vitro* del extracto etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) a concentraciones definidas anteriormente frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 comparados con el fluconazol.

La hipótesis general del estudio se describe como:

Los extractos etanólico y metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) poseen actividad **antifúngica** *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

Las hipótesis secundarias fueron:

- Los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) poseen metabolitos secundarios con actividad **antifúngica** *in vitro*.
- Al menos una de las concentraciones del extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) posee actividad **antifúngica** *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.
- Al menos una de las concentraciones del extracto metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) posee actividad **antifúngica** *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.
- Al menos una de las concentraciones del extracto etanólico y metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) posee actividad **antifúngica** *in vitro* superior al fluconazol frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 en comparación con el fluconazol.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de la investigación

Enfoque: Cuantitativo, porque se basa en tener una secuencia de procedimientos los cuales pueden probarse y medirse³³. Ya que en la investigación luego de seguir una serie de procedimientos se podrán cuantificar los datos obtenidos y evaluar la actividad **antifúngica** *in vitro* de los extractos etanólico y metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus*

Diseño Experimental: Ya que se presenta mediante la manipulación de una variable independiente (extractos etanólico y metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo), en condiciones rigurosamente controladas con el fin de describir, analizar el modo o por qué causa se produce una situación o acontecimiento particular, estableciendo una posible causa efecto con la variable dependiente (actividad **antifúngica** frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275).

Analítico: Ya que se realizará comparaciones de la variable dependiente (actividad **antifúngica** frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275) entre las concentraciones definidas para ver cuál presenta mejor efecto.

Explicativo: Ya que se encarga de buscar el porqué de los hechos mediante la relación causa-efecto³⁴, en nuestro estudio se busca relacionar las diferentes concentraciones de los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo), y la actividad **antifúngica** resultante frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Prospectivo: En el registro de información se iniciará a partir de la fecha de estudio en adelante³⁵.

Transversal: Porque se obtiene información del objeto de estudio (población o muestra) una única vez, en un momento dado.

2.2 Población, muestra y muestreo

La población vegetal rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) que serán recolectadas de la localidad de El Triunfo, distrito Las Piedra-Tambopata (Madre de Dios), a 380 msnm, en una cantidad aproximada de 3 kg. El tamaño de la muestra es 3 con un nivel de confianza de 95% y margen de error del 5%.

Población 1: Especie vegetal rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) procedente de la localidad de El Triunfo, distrito Las Piedra-Tambopata (Madre de Dios).

Población 2: Cepas de *Candida albicans* ATCC 90028 adquiridas de la empresa GenLab del Perú S.A.C.

Población 3: Cepas de *Aspergillus niger* ATCC 6275 adquiridas de la empresa GenLab del Perú S.A.C.

Muestra 1: La muestra consiste en la obtención de 3 kg de la especie vegetal cúrcuma longa (palillo) mediante un muestreo por conveniencia.

Muestra 2: La muestra consiste en una suspensión homogénea de la cepa *Candida albicans* ATCC 90028 de $1,5 \times 10^8$ células por mL³

Muestra 3: La muestra consiste en una suspensión homogénea de la cepa *Aspergillus niger* ATCC 6275 de $1,5 \times 10^8$ células por mL³

Criterios de inclusión:

- Rizomas de *Curcuma longa* L., sin presencia de microorganismos y otros contaminantes.
- Extracto etanólico a partir de los rizomas de *Curcuma longa* L., sin impurezas.
- Extracto metanólico a partir de los rizomas de *Curcuma longa* L., sin impurezas.
- Cepas de *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275, tipificadas con calidad certificada.

Criterios de exclusión

- Extractos etanólicos y metanólicos de color y olor no adecuados.

- Cepas de *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275, de proveedores no confiables.

2.3 Variables de investigación

- **Variable independiente** Extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo).

Definición conceptual: Según Ñañez y Vivas (2021) Producto obtenido luego de la maceración de las partes vegetales en alcohol al 70% por un periodo de tiempo, en este caso entre 10 a 15 minutos, pasado este tiempo se lleva a una estufa a 40 °C para su concentración, hasta que se elimine el solvente, guardándolo en un envase de vidrio color ámbar para su adecuada conservación y almacenamiento.

Definición operacional: Concentración al 25 %, 50 % y 75 % de los extractos etanólicos y metanólicos del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo).

- **Variable dependiente** Actividad antifúngica *in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Definición conceptual: Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento y propagación de los hongos en estudio. Según Saenz (2021) Hace referencia a la capacidad de una sustancia o compuestos con el fin de inhibir el crecimiento o matar a los hongos *Candida albicans* y *Aspergillus niger* en el área de un laboratorio.

Definición operacional: Sensibilidad antifúngica frente a los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) obtenida por medición del diámetro de los halos de inhibición.

2.4 Técnicas e Instrumento de recolección de datos

La técnica utilizada fue la observación y como instrumento las fichas de resultados sobre la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos etanólicos y metanólicos del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo)

2.5 Procedimientos para la recolección de datos

2.5.1 Recolección de muestra vegetal

Los rizomas frescos de *Curcuma longa* L., fueron recolectados del fundo La Queranda en el distrito de Tambopata- Puerto Maldonado a 380 msnm, en una cantidad aproximada de 3 kg y el tamaño de la muestra es 3, considerando los criterios de inclusión y exclusión, posteriormente fueron lavados con agua clorada, asimismo enjuagados con agua estéril, y finalmente se dejaron secar sobre papel Kraft bajo sombra durante ocho días.

2.5.2 Certificación de la especie vegetal

Se llevó el recurso vegetal al especialista, José Ricardo Campos De La Cruz, CBP 3796 inscrito en el Registro de Profesionales que realizan Certificación de Identificación Taxonómica de Especímenes y Productos de Flora- R.D. N°0311-2013-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS, en la ciudad de Lima.

2.5.3 Obtención de los extractos etanólicos y metanólicos

La obtención de los extractos etanólicos y metanólicos del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) se realizó por el método de maceración³⁶.

Los rizomas de cúrcuma fueron secados en una estufa a 55 °C, luego fueron pulverizados. Se pesaron por duplicado 125 g, se colocaron en dos frascos de boca ancha de 250 mL de capacidad, a un frasco se agregó etanol de 96° y al otro metanol hasta cubrir completamente la muestra, se agitó para homogenizar y se dejó por un periodo de dos semanas. Se agitó el frasco manualmente cada 24 horas durante 14 días. Luego se realizó la filtración y se quedó con el sobrenadante metanólico y etanólico³⁷.

Los extractos fueron sometidos al secado en una estufa con aire circulante y se guardaron en viales color ámbar para la realización de los ensayos.

Los extractos metanólicos y etanólicos se prepararon en concentraciones de 75 %, 50 % y 25 % con los cuales se realizó el ensayo de la actividad *antifúngica in vitro*.

2.5.4. Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica se realizó para reconocer e identificar los numerosos metabolitos activos que se encuentran en los rizomas del palillo, mediante

reacciones de coloración y muestras de sedimentos utilizando reactivos.

En un matraz se colocó 0.5 g de extracto seco etanólico y metanólico y 50 mL de alcohol de 70%, luego se homogenizó, posteriormente se realizó el siguiente procedimiento para cada reactivo.

Los análisis según la metodología de Olga Lok³⁸ son:

- **Reacción con Dragendorff:** en un tubo de ensayo se agregaron 20 gotas de los extractos etanólico y metanólico, luego se le adicionan 5 gotas de HCl y finalmente se le añadieron 5 gotas del reactivo Dragendorff. Sí se observa un precipitado de color anaranjado la reacción sería positiva para alcaloides.
- **Reacción con Baljet:** Se adiciona 4 gotas del reactivo a 0.5 mL del de los extractos etanólico y metanólico reconstituido en 1 mL de etanol. Una coloración naranja o roja es positivo para evidenciar lactonas.
- **Reacción con Shinoda:** en 2 mL de los extractos etanólico y metanólico, se le adiciona limaduras de magnesio y posteriormente se le añaden gotas de la solución de ácido clorhídrico (HCl) concentrado. Sí se observa una coloración roja la reacción sería positiva para flavonoides.
- **Reacción de $AlCl_3$:** Se procede con 10 gotas de los extractos etanólico y metanólico más 3 gotas Tricloruro de Aluminio. Sí la reacción es Positiva presentará coloración verde azul para flavonoides.
- **Reacción con $FeCl_3$ 5%:** en un tubo de ensayo se agrega 20 gotas de los extractos etanólico y metanólico, luego se le adicionan 5 gotas de $FeCl_3$ al 5%. Sí se observa una coloración verde azulado la reacción sería positiva par compuestos fenólicos.
- **Reacción con Gelatina 1%:** en un tubo de ensayo se agrega 20 gotas de los extractos etanólico y metanólico, luego se le adicionan de 5 gotas de gelatina. Sí se observa precipitado de un color blanco la reacción sería positiva para taninos.
- **Reacción con Liebermann Burchard:** 2 mL de los extractos etanólico y metanólico; se disuelve con un 1 mL de cloroformo. Luego adiciona 1 mL de

anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo se dejan correr 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio de coloración para esteroides y triterpenoides:

1. Rosado- azul, muy rápido.
 2. Verde intenso visible, aunque rápido.
 3. Verde oscuro- negro, final de la reacción.
- **Generación de espuma.** Se agregó 1 ml de muestra problema en 5 ml de agua destilada y se agitó fuertemente por 1 min. La formación de 0,5 a 1 cm de espuma estable por 15 min, demuestra una reacción positiva para saponinas.

2.5.5 Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro*

a) Microorganismos

Para los ensayos se utilizaron cepas de *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 conservados en agar Mueller Hinton.

b) Preparación de los extractos a diferentes concentraciones

Al inicio se establecieron de forma teórica las concentraciones de 10, 25, 50, 75 y 100% con el extracto; sin embargo, se ha considerado solamente las concentraciones de 25, 50 y 75%. La concentración al 100% no es viable para la prueba antimicótica y la concentración de 10% se encontraba muy diluida por lo cual tampoco se ha considerado su inclusión.

Se prepararon soluciones de 5 mL de los extractos a diferentes concentraciones, para ello se realizaron los siguientes cálculos:

- Para 75%

$$75g \rightarrow 100ml$$

$$x \rightarrow 5ml$$

$$x = 3.75 g \text{ de extracto seco}$$

Con 1.25 ml de solución de DMSO 5%

- Para 50%

$$50g \rightarrow 100ml$$

$$x \rightarrow 5ml$$

$$x = 2.5 g \text{ de extracto seco}$$

Con 2.5 ml de solución de DMSO 5%

- Para 25%

$$25g \rightarrow 100ml$$

$$x \rightarrow 5ml$$

$$x = 1.25 g \text{ de extracto seco}$$

Con 2.5 ml de solución de DMSO 5%

c) Activación de las cepas de *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Se procedió a hidratar las cepas con la adición de una solución hidratante al tubo de la cepa liofilizada a través del hisopo del mismo tubo de la cepa. Se espera 15 minutos hasta que se hidrate la cepa.

a) Preparación de los inóculos

A partir de la placa o tubos de propagación de cada cepa se transfirió una asada de cepa a 2 tubos con agua destilada esterilizada, después de homogenizar se dejó durante 15 minutos para estabilizar la cepa.

Una vez completado el tiempo de hidratación de la cepa, se realiza una dilución de la cepa en dos tubos con agua destilada esterilizada y se incubó por 15 minutos a 37°C. Con el hisopo que contiene la cepa, se extiende en placa y en tubo con caldo para su reproducción.

b) Preparación de los medios de cultivo

El medio recomendado por el Método de Disco de Difusión (Kirby Bauer) es el Agar Mueller Hinton. Se preparó de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 121°C. Se vierten 25 mL en placa esterilizada.

c) Ensayo de la actividad **antifúngica in vitro**

Completado el tiempo de dilución de cepa con un hisopo esterilizado se siembra en las placas de Mueller Hinton Agar, mediante la metodología de siembra en superficie, se incuba por 15 minutos.

Luego con ayuda de la pinza puntiaguda esterilizada se coloca los discos de difusión, 5 discos en cada placa. Con la ayuda de una micropipeta se vierte 20 µL de cada concentración del extracto en cada placa. Después de 15 minutos las placas que se han dejado reposar en la mesa de trabajo, se colocan invertidas en la incubadora a 37°C, durante 24 horas.

d) Lectura de resultados

Se realizó la medición de los halos utilizando Vernier digitalizado (mm) y las medidas resultantes fueron comparadas con los valores de sensibilidad sugeridos por la escala de sensibilidad de Duraffourd et al³⁹.

ESTATUS	Medidas en mm
<i>Sensibilidad Nula (-)</i>	<i>< 8 mm</i>
<i>Sensible (+)</i>	<i>>8mm a ≤14mm</i>
<i>Muy Sensible (++)</i>	<i>< 14mm a 20mm</i>
<i>Sumamente Sensible (+++)</i>	<i>>20mm</i>

2.6 Métodos de análisis estadísticos

Luego de la obtención de resultados de los análisis mencionados, se organizaron los datos utilizando el programa Microsoft Excel versión 2016. Asimismo, las diferencias significativas de la actividad **antifúngica** de las diferentes tipos de extractos y las concentraciones de los extractos se realizaron a través de ANOVA y prueba de homocedasticidad, con intervalo de confianza de 95% utilizando el programa estadístico SPSS versión 26.

2.7 Aspectos éticos

Según Argimon y Jiménez (2019), en la presente investigación se efectuó tomando en consideración los principios éticos, al trabajar con recursos vegetales se debe contemplar el respeto a la biodiversidad y a la protección del medio ambiente, considerando los principios del derecho ambiental de la precaución y prevención, referidos a asumir medidas que eviten los daños al medio ambiente, antes que se produzcan, y cuando se genere la duda por las posibles consecuencias de los impactos en el ecosistema, se aplica el principio de la precaución organización de las Naciones Unidas, ONU (junio 1992).

Asimismo, se ha considerado las Buenas Prácticas de Laboratorio para el desarrollo del análisis de la actividad antifúngica *in vitro*.

III. RESULTADOS

3.1 Resultados sobre el tamizaje fitoquímico

Tabla 1. Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de *Cúrcuma longa* L.

Metabolito	Ensayo	Resultados
Alcaloides	Reacción de Dragendorff	+++
Lactonas	Reacción de Baljet	+++
Flavonoides	Reacción de Shinoda	+
Flavonoides	Reacción de AlCl ₃	-
Saponinas (Poder tensioactivo)	Reacción de espuma	+
Taninos	Reacción de gelatina	-
Taninos	Reacción con FeCl ₃	+++
Esteroides y triterpenos	Reacción de Liebermann-Burchard	++
Fenoles	Reacción con FeCl ₃	+++

Leyenda:

(+++) Abundante; (++) Moderado; (+) Leve; (-) Ausencia

La tabla 1 muestra abundante presencia de alcaloides, lactonas, taninos y fenoles, asimismo moderada presencia de flavonoides y leve presencia de esteroides y triterpenos para el extracto etanólico de palillo.

Tabla 2. Marcha Fitoquímica del extracto metanólico de *Cúrcuma longa* L.

Metabolito	Ensayo	Resultados
Alcaloides	Reacción de Dragendorff	+++
Lactonas	Reacción de Baljet	+++
Flavonoides	Reacción de Shinoda	+
Flavonoides	Reacción de AlCl ₃	-
Saponinas (Poder tensioactivo)	Reacción de espuma	+
Taninos	Reacción con FeCl ₃	+++
Esteroides y triterpenos	Reacción de Liebermann-Burchard	++
Fenoles	Reacción con FeCl ₃	+++

Leyenda:

(+++) Abundante; (++) Moderado; (+) Leve; (-) Ausencia

La tabla 2 muestra abundante presencia de alcaloides, lactonas, taninos y fenoles, asimismo moderada presencia de flavonoides y leve presencia de esteroides y triterpenos para el extracto metanólico de palillo.

3.2 Determinación de la actividad antifúngica de los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Cúrcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

Para la determinación del efecto antimicótico de los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a cepas de interés clínicos se usaron concentraciones del extracto al 25 %, 50 %, 75 % y un control positivo considerado al Fluconazol 25 µg.

Tabla 3. Actividad **antifúngica** del extracto etanólico de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

CEPAS	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028				<i>Aspergillus niger</i> ATCC6275			
	Halos de inhibición (mm)							
	N			X	N			X
Concentración del extracto etanólico (%)	1	2	3		1	2	3	
75	18.21	17.74	17.70	17.89	15.74	15.56	14.92	15.40
50	15.11	15.02	16.11	15.41	13.12	13.55	12.93	13.20
25	11.36	12.06	11.57	11.66	9.90	9.69	10.07	9.89
Fluconazol 25 µg	17.72	16.80	17.20	17.24	14.70	13.90	15.50	14.70

Leyenda: Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)³⁹

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

Según la escala interpretativa de Duraffourd y Lapraz, para la cepa de *Candida albicans* ATCC 90028; la actividad **antifúngica** *in vitro* del extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo), en la concentración del 25%, tiene un desarrollo en promedio de 11,66 mm de diámetro lo que le identifica como actividad **antifúngica** de sensible (+); en la concentración de 50% y 75%, tiene un desarrollo en promedio de 15,41 mm y 17,8 mm de diámetro respectivamente. Asimismo, la concentración al 75 % desarrolló en promedio 17,89 mm siendo superior al fluconazol que obtuvo 17,24 mm identificándose como actividad **antifúngica** sumamente sensible (+++).

Para la cepa de *Aspergillus niger* ATCC 6275, la actividad **antifúngica** *in vitro* del extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo), en la concentración del 25% tiene un desarrollo en promedio de 9,89 mm de diámetro; lo que identifica

como actividad **antifúngica** de sensible (+), en las concentraciones del 50% y 75% tiene un desarrollo en promedio de 13,20 y 15,41 mm de diámetro respectivamente. Asimismo, la concentración al 75% desarrolló en promedio 15,40 mm siendo superior al fluconazol que obtuvo 14,70 mm identificándose como actividad **antifúngica** sumamente sensible (+++).

Tabla 4. Resultados promedio sobre la actividad **antifúngica** del extracto metanólico de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

CEPAS	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028				<i>Aspergillus niger</i> ATCC6275			
	Halos de inhibición (mm)							
	N			X	N			X
Concentración del extracto metanólico (%)	1	2	3		1	2	3	
75	19.90	20.01	19.67	19.86	19.90	17.84	17.85	18.53
50	17.88	18.23	17.94	18.35	17.80	15.94	16.06	16.60
25	13.45	14.08	13.78	13.78	10.55	10.94	11.27	10.92
Fluconazol 25 µg	19.92	19.25	18.99	19.39	17.31	16.90	17.72	17.31

Leyenda:

Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)³⁹

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

Según la escala interpretativa de Duraffourd y Lapraz, para la cepa de *Candida albicans* ATCC 90028; la actividad **antifúngica** *in vitro* del extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo), en la concentración del 25%, tiene un desarrollo en promedio de 13,77 mm de diámetro por lo que identifica como actividad **antifúngica** de sensible (+); en la concentración de 50 %, para la cepa de

Candida albicans ATCC 90028; tiene un desarrollo en promedio de 18,02 mm de diámetro por lo que identifica como actividad **antifúngica** de muy sensible (++), y en la concentración de 75 % para la cepa de *Candida albicans* ATCC 90028 tiene un desarrollo en promedio de 19,86 mm de diámetro. Asimismo, la concentración al 75 % desarrolló en promedio 19,86 mm siendo superior al fluconazol que obtuvo 19,39 mm identificándose como actividad **antifúngica** sumamente sensible (+++).

Para la cepa de *Aspergillus niger* ATCC 6275; la actividad **antifúngica in vitro** del extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo), en la concentración del 25% tiene un desarrollo en promedio de 10,92 mm de diámetro; lo que identifica como actividad **antifúngica** de sensible (+), en la concentración de 50% tiene un desarrollo en promedio de 16,60 mm de diámetro, lo que identifica como actividad **antifúngica** de muy sensible (++), y en la concentración de 75% tiene un desarrollo en promedio de 18,63 mm de diámetro. Asimismo, la concentración al 75 % en comparación con fluconazol desarrolló en promedio 18,53 mm siendo superior al fluconazol que obtuvo 17.31 mm identificándose como actividad **antifúngica** sumamente sensible (+++).

3.3 Resultados sobre “Contrastación de hipótesis”

3.3.1 Contrastación de hipótesis general

Para contrastar las hipótesis de investigación (H_1), se utilizaron pruebas estadísticas paramétricas, donde se procesaron los resultados según las hipótesis planteadas por el investigador. Para poder desarrollar el experimento *in vitro* se evaluó la actividad **antifúngica** de los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 en diferentes grupos de estudio, realizados a concentraciones del 25, 50 y 75%, además de ello se utilizaron controles de calidad para evaluar el desempeño del trabajo, como un control positivo Fluconazol 25 µg. Los resultados fueron interpretados según la escala estandarizada de Duraffourd³⁹.

H₀: Los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo); no tienen actividad **antifúngica in vitro** frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

H₁: Los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo); tienen actividad **antifúngica in vitro** frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Según la **Tabla 3** considerando la escala interpretativa de Duraffourd et al³⁹, las concentraciones del extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo); al 25%, frente *Candida albicans* ATCC 90028 obtuvo baja sensibilidad con un promedio de 11,66 mm, al 50 % 15,41 mm; sin embargo, al 75% se obtuvo 17,89 mm superior al control. Frente a la cepa de *Aspergillus niger* ATCC 6275, las concentraciones del extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo); obtuvieron sensibilidad baja al 25% (9,89 mm), al 50% (13,20 mm); sin embargo, al 75% se obtuvo 15,40 mm superior al control. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H₀) y se acepta la hipótesis alterna (H₁), siendo la concentración al 75% mayor al control (fluconazol).

Para la **Tabla 4** considerando la escala interpretativa de Duraffourd et al³⁹, las concentraciones del extracto metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo); al 25%, frente *Candida albicans* ATCC 90028 obtuvo baja sensibilidad con un promedio de 13,78 mm, al 50 % 18,35 mm; sin embargo, al 75% se obtuvo 19,86 mm superior al control. Frente a la cepa de *Aspergillus niger* ATCC 6275, las concentraciones del extracto metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) obtuvieron sensibilidad baja al 25% (10,92 mm), al 50% (16,60 mm); sin embargo, al 75% se obtuvo 18,53 mm superior al control. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H₀) y se acepta la hipótesis alterna (H₁), siendo la concentración al 75% mayor al control (fluconazol).

Conclusión: Los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) tienen actividad **antifúngica in vitro** frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

3.3.2 Contrastación de hipótesis específica

- **Hipótesis Específica 1:**

H₀: Los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) no poseen metabolitos con actividad **antifúngica**.

H₁: Los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) poseen metabolitos con actividad **antifúngica**.

Para contrastar esta hipótesis, se realizó la prueba de Marcha Fitoquímica por el Método de Olga Lock³⁸, la determinación se realizó mediante pruebas cualitativas de coloración y precipitación, dependiendo los grupos químicos presentes en la muestra vegetal y se identificó los metabolitos secundarios con actividad **antifúngica**, como taninos, alcaloides y flavonoides descritos en la **Tabla N° 1** y **Tabla N° 2**.

La presencia de estos metabolitos secundarios estaría relacionada con la actividad **antifúngica in vitro** de los extractos etanólico y metanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo). Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H₀) y se acepta la hipótesis alterna (H₁).

Conclusión: Los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) poseen metabolitos con efecto antimicótico *in vitro*.

Hipótesis Específica 2:

H₀: El extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) no tiene efecto antimicótico *in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 a mayor concentración.

H₁: El extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) tiene efecto antimicótico *in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 a mayor concentración.

Para poder elegir la prueba estadística a realizar debemos verificar el cumplimiento de los supuestos: prueba de normalidad y prueba de homogeneidad de varianzas.

Prueba de normalidad:

Tabla 5. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk (extracto etanólico).

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Ensayo 1: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	,810	18	,062
Ensayo 1: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	,766	18	,071
Ensayo 2: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	,814	18	,062
Ensayo 2: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	,788	18	,051
Ensayo 3: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	,824	18	,053
Ensayo 3: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	,803	18	,062

Criterios:

H₀: la variable actividad **antifúngica in vitro** frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 sigue un comportamiento normal.

H₁: la variable actividad **antifúngica in vitro** frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 no sigue un comportamiento normal.

Donde:

P es menor a 0,05 se acepta la H₁

P es mayor a 0,05 se acepta la H₀

Interpretación:

La Sig., para la variable actividad **antifúngica in vitro** frente a *Candida albicans* y *Aspergillus niger* en los tres ensayos son mayores a 0.05; por lo que se concluye que los datos de la variable actividad **antifúngica in vitro** frente a *Candida albicans* y *Aspergillus niger* sigue un comportamiento normal. Cumple los criterios de la prueba de normalidad.

Prueba de homocedasticidad:

Tabla 6. Prueba de homocedasticidad de varianza del extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Ensayo 1: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	Se basa en la media	1,822	2	15	,196
Ensayo 1: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	Se basa en la media	1,144	2	15	,345
Ensayo 2: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	Se basa en la media	,793	2	15	,471
Ensayo 2: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	Se basa en la media	,915	2	15	,422
Ensayo 3: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	Se basa en la media	,191	2	15	,828
Ensayo 3: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	Se basa en la media	3,123	2	15	,073

Criterios:

H₀: Las varianzas son iguales.

H₁: Las varianzas no son iguales.

Donde:

P es menor a 0,05 se acepta la H₁

P es mayor a 0,05 se acepta la H₀

Interpretación:

La Sig., para la variable actividad **antifúngica in vitro** frente *Candida albicans* y *Aspergillus niger* en los tres ensayos son mayores a 0,05; por lo que se concluye que las varianzas son iguales con respecto a la variable actividad **antifúngica in vitro** frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Tabla 7. Prueba de ANOVA de los halos de inhibición del extracto etanólico del palillo frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	Entre grupos	119.164627	4	29.7911567	138.0711726	,000
	Dentro de grupos	2.15766667	10	0.21576667		
	Total	121.322293	14			
Actividad antifúngica frente a <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275	Entre grupos	62.82544	4	15.70636	72.3550874	,000
	Dentro de grupos	2.17073333	10	0.21707333		
	Total	64.9961733	14			

En la tabla 7, se aprecia la prueba de **ANOVA**, donde el valor de sig., es 0,00 entre los grupos para ambas cepas, esto indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Para determinar el mejor de los tratamientos se aplicó pruebas POST HOC, en este caso la prueba de Tukey.

DECISIÓN: Existe evidencia estadística significativa para indicar que el extracto etanólico de *Cúrcuma longa* L. (palillo) presenta actividad antifúngica *in vitro* frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Tabla 8. “Comparaciones múltiples de los halos de inhibición del extracto etanólico del palillo frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275”.

Comparaciones múltiples							
	Q TEST	HSD Tukey					
Variable dependiente: Actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	Group 1	Group 2	Mean	Std err	Q-Stat	Lower	P-Value
	etanol 70 %	E.Etanólico 25 %	0.62666667	0.26818319	2.33671123	1.87479122	0.50
	etanol 70 %	E.Etanólico 50 %	4.37666667	0.26818319	16.3196907	5.62479122	0.00
	etanol 70 %	E.Etanólico 75 %	6.84666667	0.26818319	25.5298131	8.09479122	0.00
	etanol 70 %	Fluconazol 25 µg	6.20333333	0.26818319	23.1309553	7.45145789	0.00
	E.Etanólico 25 %	E.Etanólico 50 %	3.75	0.26818319	13.9829794	4.99812456	0.00
	E.Etanólico 25 %	E.Etanólico 75 %	6.22	0.26818319	23.1931019	7.46812456	0.00
	E.Etanólico 25 %	Fluconazol 25 µg	5.57666667	0.26818319	20.7942441	6.82479122	0.00
	E.Etanólico 50 %	E.Etanólico 75 %	2.47	0.26818319	9.21012245	3.71812456	0.00
	E.Etanólico 50 %	Fluconazol 25 µg	1.82666667	0.26818319	6.81126465	3.07479122	0.00
	E.Etanólico 75 %	Fluconazol 25 µg	0.64333333	0.26818319	2.39885781	1.89145789	0.48
Variable dependiente: Actividad antifúngica frente a <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275	etanol 70 %	E.Etanólico 25 %	1.51333333	0.26899401	5.62589973	0.26143521	0.02
	etanol 70 %	E.Etanólico 50 %	1.8	0.26899401	6.6915988	0.54810187	0.01
	etanol 70 %	E.Etanólico 75 %	4.00666667	0.26899401	14.8950033	2.75476854	0.00
	etanol 70 %	Fluconazol 25 µg	3.3	0.26899401	12.2679311	2.04810187	0.00
	E.Etanólico 25 %	E.Etanólico 50 %	3.31333333	0.26899401	12.3174985	2.06143521	0.00
	E.Etanólico 25 %	E.Etanólico 75 %	5.52	0.26899401	20.520903	4.26810187	0.00
	E.Etanólico 25 %	Fluconazol 25 µg	4.81333333	0.26899401	17.8938309	3.56143521	0.00
	E.Etanólico 50 %	E.Etanólico 75 %	2.20666667	0.26899401	8.20340446	0.95476854	0.00

	E.Etanolico 50 %	Fluconazol 25 µg	1.5	0.26899401	5.57633234	0.24810187	0.02
	E.Etanolico 75 %	Fluconazol 25 µg	0.70666667	0.26899401	2.62707212	-0.54523146	0.40

En la tabla 8. Se observa el análisis para comparaciones múltiples, donde muestra la Sig. (0,000) menor a 0,05 lo que indica que existen diferencias significativas en las diferentes concentraciones aplicadas al 25 %, 50 % y 75 % del extracto etanólico de *Cúrcuma longa* L. (palillo), se rechaza la hipótesis nula (H_0), y se acepta la hipótesis (H_1).

Conclusión: El extracto etanólico de *Cúrcuma longa* L. (palillo), tiene efecto antimicótico *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 a mayor concentración.

Hipótesis Específica 3:

H_0 : El extracto metanólico de rizoma de *Cúrcuma longa* L. (palillo) no tiene efecto antifúngico *in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 a mayor concentración.

H_1 : El extracto metanólico de rizoma de *Cúrcuma longa* L. (palillo) tiene efecto antifúngico *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 a mayor concentración.

Para poder elegir la prueba estadística a realizar se debe verificar el cumplimiento de los supuestos: prueba de normalidad y prueba de homogeneidad de varianzas.

La prueba de normalidad nos indica que los halos de inhibición obtenidos presentan una distribución normal, en este caso se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk. La prueba de homogeneidad de varianzas nos ayuda a determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado.

Prueba de normalidad:

Tabla 9. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk (extracto metanólico).

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Ensayo 1: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	,824	18	,072
Ensayo 1: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	,788	18	,061
Ensayo 2: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	,836	18	,073
Ensayo 2: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	,744	18	,067
Ensayo 3: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	,837	18	,058
Ensayo 3: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	,876	18	,069

Criterios:

H₀: la variable actividad **antifúngica** *in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 sigue un comportamiento normal.

H₁: la variable actividad **antifúngica** *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 no sigue un comportamiento normal.

Donde:

P es menor a 0,05 se acepta la H₁

P es mayor a 0,05 se acepta la H₀

Interpretación:

La Sig., para la variable actividad **antifúngica** *in vitro* frente *Candida albicans* y *Aspergillus niger* en los tres ensayos son mayores a 0,05; por lo que se concluye que los datos de la variable actividad **antifúngica** *in vitro* frente *Candida albicans* y *Aspergillus niger* sigue un comportamiento normal. Cumple los criterios de la prueba de normalidad.

Prueba de homocedasticidad:

Tabla 10. Prueba de homocedasticidad de varianza del extracto metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Ensayo 1: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	Se basa en la media	1,433	2	15	,185
Ensayo 1: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	Se basa en la media	1,233	2	15	,347
Ensayo 2: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	Se basa en la media	,768	2	15	,492
Ensayo 2: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	Se basa en la media	,919	2	15	,426
Ensayo 3: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Candida albicans</i>)	Se basa en la media	,125	2	15	,874
Ensayo 3: Promedio de Halos de Inhibición (<i>Aspergillus niger</i>)	Se basa en la media	3,254	2	15	,069

Criterios:

H₀: Las varianzas son iguales.

H₁: Las varianzas no son iguales.

Donde:

P es menor a 0,05 se acepta la H₁

P es mayor a 0,05 se acepta la H₀

Interpretación:

La Sig., para la variable actividad antifúngica *in vitro* frente *Candida albicans* y *Aspergillus niger* en los tres ensayos son mayores a 0,05; por lo que se concluye que las varianzas son iguales con respecto a la variable actividad antifúngica *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Tabla 11. Prueba de ANOVA de los halos de inhibición del extracto metanólico del palillo frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	Entre grupos	96.03324	4	24.00831	198.0012371	,000
	Dentro de grupos	1.21253333	10	0.121253333		
	Total	97.2457733	14			
Actividad antifúngica frente a <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275	Entre grupos	139.79964	4	34.94991	62.42616011	,000
	Dentro de grupos	5.5986	10	0.55986		
	Total	145.39824	14			

En la tabla 11, se aprecia en la prueba de **ANOVA**, donde el valor de sig., es 0,00 entre los grupos para ambas cepas, esto indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Para determinar el mejor de los tratamientos se aplicó pruebas POST HOC, en este caso la prueba de Tukey.

DECISIÓN: Existe evidencia estadística significativa para indicar que el extracto metanólico de *Curcuma longa* L. (palillo) presenta actividad antifúngica *in vitro* frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275.

Tabla 12. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición del extracto metanólico del palillo frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

Comparaciones múltiples							
	Q TEST	HSD Tukey					
Variable dependiente: Actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	Group 1	Group 2	Mean	Std err	Q-Stat	Lower	P-Value
	etanol 70 %	E.Metanólico 25 %	0.64	0.20104173	3.18341866	-0.29564822	0.24
	etanol 70 %	E.Metanólico 50 %	3.60666667	0.20104173	17.9398906	2.67101845	0.00
	etanol 70 %	E.Metanólico 75 %	5.45	0.20104173	27.1087996	4.51435178	0.00
	etanol 70 %	Fluconazol 25 µg	4.97666667	0.20104173	24.7543962	4.04101845	0.00
	E.Metanólico 25 %	E.Metanólico 50 %	4.24666667	0.20104173	21.1233093	3.31101845	0.00
	E.Metanólico 25 %	E.Metanólico 75 %	6.09	0.20104173	30.2922182	5.15435178	0.00
	E.Metanólico 25 %	Fluconazol 25 µg	5.61666667	0.20104173	27.9378148	4.68101845	0.00
	E.Metanólico 50 %	E.Metanólico 75 %	1.84333333	0.20104173	9.16890896	0.90768512	0.00
	E.Metanólico 50 %	Fluconazol 25 µg	1.37	0.20104173	6.81450558	0.43435178	0.00
	E.Metanólico 75 %	Fluconazol 25 µg	0.47333333	0.20104173	2.35440339	-0.46231488	0.49
	Variable dependiente: Actividad antifúngica frente a <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275	etanol 70 %	E.Metanólico 25 %	0.98	0.43199537	2.26854283	-1.03050645
etanol 70 %		E.Metanólico 50 %	4.7	0.43199537	10.8797462	2.68949355	0.00
etanol 70 %		E.Metanólico 75 %	6.63	0.43199537	15.3473867	4.61949355	0.00
etanol 70 %		Fluconazol 25 µg	5.41	0.43199537	12.5232824	3.39949355	0.00
E.Metanólico 25 %		E.Metanólico 50 %	5.68	0.43199537	13.1482891	3.66949355	0.00
E.Metanólico 25 %		E.Metanólico 75 %	7.61	0.43199537	17.6159295	5.59949355	0.00
E.Metanólico 25 %		Fluconazol 25 µg	6.39	0.43199537	14.7918252	4.37949355	0.00

	E.Metanólico 50 %	E.Metanólico 75 %	1.93	0.43199537	4.46764047	-0.08050645	0.06
	E.Metanólico 50 %	Fluconazol 25 µg	0.71	0.43199537	1.64353613	-1.30050645	0.77
	E.Metanólico 75 %	Fluconazol 25 µg	1.22	0.43199537	2.82410434	-0.79050645	0.33

En la tabla 12. Se observa el análisis para comparaciones múltiples, donde la Sig. (0,000) menor a 0,05, lo que indica que existe diferencias

significativas en las diferentes concentraciones aplicadas al 25 %, 50 % y 75 % del extracto metanólico de *Cúrcuma longa* L. (palillo), se rechaza la hipótesis nula (H_0), y se acepta la hipótesis (H_1).

Conclusión: El extracto metanólico de *Cúrcuma longa* L. (palillo), tiene efecto antimicótico *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 a mayor concentración.

Hipótesis Específica 4:

H_0 : El extracto etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) al 25 %, 50 % y 75 % no tiene mayor efecto antifúngico *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 en comparación con el fluconazol.

H_1 : El extracto etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) al 25 %, 50 % y 75 % tiene mayor efecto antifúngico *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 en comparación con el fluconazol.

Para ello se emplea la escala interpretativa Duraffourd y Lapraz, en las **Tabla 3** y **Tabla 4** observamos que los resultados obtenidos en donde los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Cúrcuma longa* L. (palillo) al 75 % presenta halos de inhibición superior al obtenido por fluconazol. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H_0), y se acepta la hipótesis (H_1).

Conclusión: El extracto etanólico y metanólico de rizoma de *Cúrcuma longa* L. (palillo) al 75 % tiene mejor efecto antimicótico *in vitro* frente *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275 en comparación con el fluconazol.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión de resultados

Las patologías producidas por hongos en las últimas décadas se han convertido en un problema de salud, los tratamientos antifúngicos convencionales, en lugar de ser beneficiosos, han generado alteraciones que han derivado en resistencias antifúngicas. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC6275.

Los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) poseen metabolitos con efecto antifúngico; similar al estudio que realizó Espinoza A, et al. (2017)²⁶, quienes evaluaron el efecto antimicrobiano *in vitro* de la *Curcuma longa* L. (palillo) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*, y hallaron curcuminoides, terpenos, taninos y flavonoides, lo cual diferencia con el estudio realizado donde se obtuvo taninos, compuestos fenólicos y alcaloides, probablemente por el tipo de cultivo de la planta. Asimismo, concluyeron que el extracto etanólico de *Curcuma longa* L. (palillo) tiene efecto antimicrobiano frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* coincidiendo con el estudio realizado.

Así mismo, Kasta G. (2020)³⁰, determinó que la concentración del extracto etanólico de cúrcuma de rizoma es activo contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. El tamizaje fitoquímico mostró que el extracto etanólico de rizoma de cúrcuma contiene alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y triterpenoides, esteroides, coincidiendo con los resultados obtenidos en el presente estudio como son los alcaloides, taninos y triterpenoides. La inhibición antimicrobiana del extracto etanólico de rizoma de cúrcuma contra *E. coli*, *S. aureus* y *C. albicans* a una concentración de 500 mg/mL tuvo un diámetro de 15,7 mm, 15 mm y 15,18 mm con una categoría fuerte.

Sáenz L., et al. (2022)²⁵, estudiaron el efecto antifúngico *in vitro* de extracto etanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. sobre *Candida albicans* ATCC 10231. Los resultados evidenciaron que el extracto etanólico de la cúrcuma presentó efecto inhibitorio sobre la cepa en estudio a partir de la concentración del 50%. De igual

manera Chen Ciqiong, et al. (2018)³² determinaron el espectro antifúngico del extracto alcohólico de *Curcuma longa* y los valores EC₅₀ resultantes (mg/mL) de su extracto en once hongos, los resultados mostraron que el extracto etanólico de *C. longa* puede interrumpir la síntesis de proteínas y enzimas críticas, lo que en última instancia puede inhibir el crecimiento de hongos. Se encontró que los efectos antifúngicos estaban relacionados con la interrupción de los sistemas de membrana celular fúngica, específicamente la inhibición de la síntesis de ergosterol y la cadena respiratoria; aspectos que se relacionarían con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde el extracto etanólico y extracto metanólico presentaron una actividad mayor que el fluconazol.

Flores A. (2017)²⁷, evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Curcuma longa*, sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Utilizaron concentraciones de 25, 50, 75 y 100% del extracto hidroalcohólico, además de fármacos controles como la vancomicina y fluconazol. Se evidenció que a todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico tuvo efecto antimicrobiano para *Staphylococcus aureus* siendo el CIM de 10 mg/mL, mientras que para *Candida albicans* fue de 2,5 mg/mL. Se presentó mayor efecto antimicrobiano sobre *Candida albicans* que *Staphylococcus aureus*, lo cual compatibiliza con los resultados obtenidos en el presente estudio.

4.2 Conclusiones

- El extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) al 75% obtuvo alta sensibilidad de 17,89 mm como halo de inhibición frente *Candida albicans* ATCC 90028 y 15,40 mm como halo de inhibición frente a la cepa de *Aspergillus niger* ATCC 6275, considerados como altamente sensibles, siendo superior al control (fluconazol).
- El extracto metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo) al 75 % obtuvo alta sensibilidad de 19,86 mm como halo de inhibición frente *Candida albicans* ATCC 90028 y 18,53 mm frente a la cepa de *Aspergillus niger* ATCC 6275, considerados como altamente sensibles, siendo superior al control (fluconazol).

- Los resultados de la Marcha Fitoquímica identificaron los posibles metabolitos secundarios con actividad **antifúngica in vitro**, como son los alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides y triterpenos, los cuales podrían estar relacionados con la actividad **antifúngica in vitro** de los extractos etanólico y metanólico del rizoma de *Cúrcuma longa* L. (palillo).

4.3 Recomendaciones

- Se sugiere continuar con investigaciones a fin de consolidar mejores resultados, ya que sería importante encontrar puntos que ajusten concentraciones en forma de dosis, efectuando pruebas a mayores concentraciones y hallando la concentración mínima inhibitoria para poder ampliar así los conocimientos acerca de las propiedades farmacológicas de esta especie vegetal medicinal.
- Se propone realizar investigaciones, basándose en la importancia de los principios activos de especies vegetales con amplio espectro farmacológico como la *Curcuma longa* L. (palillo) para otorgarles evidencia científica a las propiedades que se le atribuyen.
- Teniendo en cuenta la presencia de metabolitos secundarios como son antocianinas, alcaloides, lactonas, taninos y fenoles en la especie *C. longa* L. (palillo), estas pueden utilizarse en investigaciones posteriores para la elaboración y fabricación de productos farmacológicos con fines terapéuticos e innovación tecnológica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abd M., et al. La curcumina, el principio activo de la cúrcuma: sus efectos sobre la salud y formas de mejorar su biodisponibilidad. Revista de Ciencias de la Alimentación y la Agricultura [Internet] (2021) 101.14: 5747-5762. [Citado 4 abril 2022] Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.11372>
2. Argimon, J. y Jiménez, J. (2019). Métodos de investigación clínica y epidemiológica. <https://apunteca.usal.edu.ar/id/eprint/1782/>
3. Wilson D. Candida albicans. Revista Tendencias en Microbiología 27.2 [Internet] (2019): 188-189. [Citado 5 marzo 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.10.010>
4. Li C., et al. Desarrollo de *Aspergillus niger* como fábrica de células para la producción de enzimas alimentarias. Revista Avances en biotecnología [Internet] (2020) 44: 107630. [Citado 5 marzo 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107630>
5. Poulsen J., et al. Respuestas fisiológicas de *Aspergillus niger* desafiadas con itraconazol. Revista Agentes antimicrobianos y quimioterapia 65.6 (2021): e02549-20. [Citado 8 marzo 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.02549-20>
6. Cortés A., Roa O., Méndez R., Álvarez C. Opciones terapéuticas frente a especies de *Candida* resistente a las equinocandinas. Universidad de Medicina. [Internet]. 2018; 59(2): 37-51. [Citado 8 marzo 2022] Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-08392018000200037&lng=en. <https://doi.org/10.11144/javeriana.umed59-2.cand>.
7. Zida A., et al. Productos naturales contra la *Candida albicans*, fuentes de nuevos fármacos antimicóticos: una revisión. [Internet]. Journal de mycologie medicale 27.1 (2017): 1-19. [Citado 22 marzo 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.10.002>

8. Ríos Á., Alanís G., Y Favela S. Etnobotánica de los recursos vegetales, sus formas de uso y manejo, en Bustamante, Nuevo León. Revista mexicana de ciencias forestales [Internet]. (2017). 8(44), 89-111. Recuperado en 09 de julio de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322017000600089&lng=es&tlng=es.
9. Oliveira F. Características químicas y microbiológicas de la cúrcuma (*Curcuma longa*). Tesis de licenciatura. Universidad Tecnológica Federal de Paraná, 2017. <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/10309>
10. Peram M., et al. Método analítico robusto único de RP-HPLC para la cuantificación de curcuminoides en productos comerciales de cúrcuma, medicamentos ayurvédicos y sistemas nanovesiculares. Revista Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies 40.10 [Internet]. (2017): 487-498. [Citado 22 marzo 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10826076.2017.1329742>
11. Hewlings S., y Kalman D. Curcumina: una revisión de sus efectos en la salud humana. Revista Alimentos [Internet]. (2017): 6.10 92. [Citado 22 marzo 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods6100092>
12. Stohs S., et al. Formas de curcumina altamente biodisponibles y vías prometedoras para la investigación y la aplicación basadas en la curcumina: una revisión. Revista Moléculas [Internet] (2020) 25.6: 1397. [Citado 22 marzo 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules25061397>
13. Rahmani A., Alsahli M., Ali S., Kan M., Aldebasi Y. Papel de la curcumina en la prevención y tratamiento de enfermedades. Revista Adv. biomedicina Res. [Internet] 2018, 7, 38 [Citado 2 abril 2022] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5852989/>

14. Ashraf, K. Una revisión completa sobre *Cúrcuma longa* Linn. Estudio fitoquímico, farmacológico y molecular. Revista Internacional de Farmacia Verde (IJGP) 11.04 [Internet] (2018). [Citado 4 abril 2022] Disponible en: <http://www.greenpharmacy.info/index.php/ijgp/article/view/1343>
15. Llamo Y, Del Carpio. Efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum Benth* (capirona) frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Maria Auxiliadora - Lima - 2022. https://docs.google.com/document/d/1BDTZlhghgOKSG2Oxft_177OvWiQG1tus/edit#
16. Qiong-Qiong Y., et al. Perfiles fenólicos, actividades antioxidantes y antiproliferativas de la cúrcuma (*Cúrcuma longa*). Cultivos y productos industriales [Internet] 2020. 152: 112561. [Citado 4 abril 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112561>
17. Sharifi J., et al. La cúrcuma y su principal compuesto curcumina en la salud: efectos bioactivos y perfiles de seguridad para aplicaciones alimentarias, farmacéuticas, biotecnológicas y medicinales. Revista Fronteras en farmacología [Internet] (2020)11: 01021. [Citado 4 abril 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01021>
18. Grover M.; Behl T.; Sehgal A.; Singh S.; Sharma N.; Virmani T.; et.al. Cribado fitoquímico *in vitro*, estudios de citotoxicidad de extractos de *Curcuma longa* con aislamiento y caracterización de sus compuestos aislados. Revista Moléculas [Internet] 2021, 26, 7509. [Citado 9 abril 2022] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules26247509>

19. Arias Q., Leyva M., Ávila E., Feist H., & Langer P. Caracterización del aceite esencial de *Curcuma longa* L. Y actividad insecticida frente *Aedes aegypti*. Revista Cubana de Química, [Internet] 2020. 32(3), 378-389. Epub 03 de diciembre de 2020. Recuperado en 09 de junio de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212020000300378&lng=es&tlng=es.
20. Sabir S., Zeb A., Mahmood M., Abbas S., Ahmad Z., Iqbal N. Análisis fitoquímico y actividades biológicas del extracto etanólico de rizoma de *Curcuma longa*. Braz. J. Biol. [Internet]. [citado 18 abril 2022]. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842020005028202&lng=en.
En prensa 2020. Epub 21 de septiembre de 2020. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.230628>.
21. Gato M., Morejón D., y Hernández R. *Curcuma longa*, restaurador histológico en la hepatotoxicidad por paracetamol. Revista Cibamanz [Internet] 2021. [citado 18 abril 2022]. Disponible en: <https://cibamanz2021.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2021/paper/view/461>
22. Cosquillo, M. Efecto antioxidante, antitumoral y genotóxico del extracto crudo y etanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. "palillo". (2019). [Tesis de grado] La Libertad: Universidad Nacional de Trujillo
23. Omonte L., y Bustamante Z. Actividad Antioxidante, antibacteriana y Citostática de Extractos de Cúrcuma (*Curcuma Longa*). Revista Gaceta Médica Boliviana [Internet] 2022. 45.1: 12-16. [citado 18 abril 2022]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1012-29662022000100012&script=sci_arttext
24. Ybalmea Y., Sarmiento F., Yglesias A., Llanes R., Gutiérrez O. In vitro anti-inflammatory and antioxidant effect of *Curcuma longa* against murine macrophages during *Helicobacter pylori* infection. Rev Cubana Med Trop [Internet]. 2021 Dic [citado 2022 abril 09]; 73(3): e702. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602021000300005&lng=es. Epub 01-Dic-2021.

25. Sáenz L., Tejada A., Guerrero J. Efecto antifúngico in vitro de extracto etanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. Sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Rev per med integr. [Internet] 2021 [citado 9 febrero 2022]. 6:3. Disponible en: <https://rpm.pe/index.php/RPMI/article/view/202>
26. Espinoza A, La Fuente K. “Efecto Antimicrobiano, in vitro del Extracto de *Curcuma longa* L. (palillo) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*.”. Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Católica de Santa María - Arequipa (2017). [citado 9 febrero 2022]. 6:3. Disponible en: <https://1library.co/document/q5me7jyy-efecto-antimicrobiano-extracto-curcuma-staphylococcus-escherichia-candida-albicans.html>
27. Flores A. “Efecto antimicrobiano in vitro del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Curcuma longa* (Guisador), sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*”. Proyecto de Tesis para Optar el Grado de Bachiller en Medicina, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo – Perú (2017). [citado 9 febrero 2022]. 6:3. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/11260/TESIS-FINAL-ARIADNA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
28. Quispe K. Efecto antimicótico in vitro del extracto de la cúrcuma (*Curcuma longa*) frente a la cepa de *Candida albicans*. (2020).[Tesis de licenciatura] Puno: Universidad Nacional del Altiplano
29. AL-Masoodi H., Hussein J. Hussein y Abeer Fauzi Al-Rubaye. Actividad antifúngica de las dos plantas medicinales (*Curcuma longa* L. y *Boswellia carteri* Birdwood) contra especies de *Fusarium* aisladas de semillas de maíz. Revista internacional de investigación farmacéutica [Internet] (2020) 12:3: 408-414. [citado 18 abril 2022]. Disponible en: <file:///C:/Users/BOTICA/Downloads/Antifungalactivityofthetwomedicinalplant>

sCurcuma longa L. and Boswellia carteri Birdwood against Fusarium species isolated from maize seeds.pdf

30. Kasta G. Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de rizoma de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) para el crecimiento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Revista asiática de investigación y desarrollo farmacéutico [Internet] 2020. 8.3: 5-8. [citado 18 abril 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.22270/ajprd.v8i3.712>
31. Abdeljalil S., El-Bakry A, Zoghroban A., Kassem S. Actividades insecticidas y antifúngicas de extractos crudos y compuestos puros de rizomas de *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae). JAST. [Internet] 2019; 21 (4) :1049-1061 [citado 18 abril 2022]. Disponible en: <http://jast.modares.ac.ir/article-23-14220-en.html>
32. Chen Ciqiong, et al. Actividad antifúngica, principales componentes activos y mecanismo del extracto de *Curcuma longa* contra *Fusarium graminearum*. PloS uno [Internet] (2018) 13.3 [citado 18 abril 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194284>
33. Sánchez F. Fundamentos epistémicos de la investigación cualitativa y cuantitativa: consensos y disensos. [Internet] Revista Digital de Investigación en Docencia Universitaria 2019, 13(1): 102-122. [Citado: 2022 enero 28]. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.19083/ridu.2019.644>
34. Prieto B. El uso de los métodos deductivo e inductivo para aumentar la eficiencia del procesamiento de adquisición de evidencias digitales. [Internet] Cuadernos de contabilidad 18.46 (2017): 56-82. [Citado: 2021, junio 15]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-14722017000200056
35. Varela S., Musuña G. Evaluación de la eficacia antimicrobiana *in vitro* de cápsulas de extracto fluido de *Vaccinium floribundum* Kunth (mortiño); en

- infecciones agudas del tracto urinario. [Tesis para obtener el título de Ingeniero en Biotecnología]. Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana de Quito, 2020. [Citado: 2022, junio 15]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18427/1/UPS-QT14369.pdf>
36. Benítez R., et al. Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. Revista Facultad de Ciencias Básicas [Internet] 2019. 15.1: 31-40. [Citado: 2022, junio 18]. Disponible en: <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/view/3597>
37. Quezada M., Gamarra O., y Romel F. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de seis plantas medicinales usadas en Amazonas. Revista Medicina naturista [Internet] 2021, 15.1: 32-37. [Citado: 2022, junio 18]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7747848>
38. Look de Ugaz Olga. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales Fondo Bibliográfico de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994.
39. Duraffourd C, Lapraz J, Hervicourt L. Cuadernos de fitoterapia clínica: Masson; 1987.
40. Ñañez y Vivas (2021). ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE CORTEZA DE Ficus citrifolia Mill. FRENTE A CEPAS DE Escherichia coli ATCC 8739 y Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027. [Tesis de Título, Universidad María Auxiliadora, Perú]. Obtenido de: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/452/%E2%80%9CACTIVIDAD%20ANTIBACTERIANA%20DEL%20EXTRACTO%20HIDROALCOH%20C3%93LICO%20DE%20CORTEZA%20DE%20Ficus%20citrifolia%20Mill.%20FRENTE%20A%20CEPAS%20DE%20Escherichia%20coli%20ATCC%208739%20y%20Pseu.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
41. Saenz, L (2021). Revista Peruana de Medicina Integrativa. Recuperado de: <https://rpmi.pe/index.php/rpmi/article/view/39>

ANEXOS

ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos

Tabla 1. Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de *Cúrcuma longa* L.

Metabolito	Ensayo	Resultados
Alcaloides	Reacción de Dragendorff	
Lactonas	Reacción de Baljet	
Flavonoides	Reacción de Shinoda	
Flavonoides	Reacción de AlCl ₃	
Saponinas (Poder tensioactivo)	Reacción de espuma	
Taninos	Reacción de gelatina	
Taninos	Reacción con FeCl ₃	
Triterpenos	Reacción de Liebermann-Burchard	
Fenoles	Reacción con FeCl ₃	

Leyenda:

(+++) Abundante

(++) Moderado

(+) Leve

(-) Ausencia

Tabla 2. Marcha Fitoquímica del extracto metanólico de *Cúrcuma longa* L.

Metabolito	Ensayo	Resultados
Alcaloides	Reacción de Dragendorff	
Lactonas	Reacción de Baljet	
Flavonoides	Reacción de Shinoda	
Flavonoides	Reacción de AlCl ₃	
Saponinas (Poder tensioactivo)	Reacción de espuma	
Taninos	Reacción con FeCl ₃	
Triterpenos	Reacción de Liebermann-Burchard	
Fenoles	Reacción con FeCl ₃	

Leyenda:

(+++) Abundante

(++) Moderado

(+) Leve

(-) Ausencia

Tabla 3: Resultados promedio sobre la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Cúrcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

CEPAS	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028				<i>Aspergillus niger</i> ATCC6275			
	Halos de inhibición (mm)							
Concentración del extracto etanólico (%)	N			X	N			X
	1	2	3		1	2	3	
75								
50								
25								
Fluconazol 25 µg								

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)

Tabla 4: Resultados promedio sobre la actividad antifúngica del extracto metanólico de *Cúrcuma longa* L. (palillo) frente a *Candida albicans* ATCC 90028 y *Aspergillus niger* ATCC 6275

CEPAS	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028			<i>Aspergillus niger</i> ATCC6275				
	Halos de inhibición (mm)							
Concentración del extracto metanólico (%)	N			X	N			X
	1	2	3		1	2	3	
75								
50								
25								
Fluconazol 25 µg								

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
¿Los extractos etanólico y metanólico del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) tendrán actividad antifúngica in vitro frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275?	Evaluar la actividad antifúngica in vitro de los extractos etanólico y metanólico del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275	Los extractos etanólico y metanólico del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) poseen actividad antifúngica in vitro frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Qué tipo de metabolitos secundarios presentarán los extractos etanólico y metanólico del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo)?	Identificar los metabolitos secundarios con actividad antifúngica presentes en los extractos etanólico y metanólico del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo).	Los extractos etanólico y metanólico de rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) poseen metabolitos secundarios con actividad antifúngica in vitro .
¿Cuáles serán las concentraciones del extracto etanólico del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) con actividad antifúngica in vitro frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275?	Determinar las concentraciones del extracto etanólico del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) que presentarán mayor actividad antifúngica in vitro frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.	Al menos una de las concentraciones del extracto etanólico de rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) posee actividad antifúngica in vitro frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.
¿Cuáles serán las concentraciones del extracto metanólico de rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) con actividad antifúngica in vitro frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275?	Determinar las concentraciones del extracto metanólico del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) que presentarán mayor actividad antifúngica in vitro frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.	Al menos una de las concentraciones del extracto metanólico de rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) posee actividad antifúngica in vitro frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275.

<p>¿Los extractos etanólicos y metanólicos del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) a concentraciones definidas anteriormente poseerán actividad antifúngica in vitro superior al fluconazol frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275?</p>	<p>Comparar la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico y metanólico de rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) a concentraciones definidas anteriormente frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275 comparados con el fluconazol.</p>	<p>Al menos una de las concentraciones del extracto etanólico y metanólico del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) posee actividad antifúngica in vitro superior al fluconazol frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275 en comparación con el fluconazol.</p>
--	--	--

PROCEDIMIENTO PARA COLECTA DE DATOS USANDO LA GUIA DE OBSERVACION:

1. Recolección de la muestra vegetal
2. Certificación de la especie vegetal
3. Marcha fitoquímica de los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo)
4. Actividad **antifúngica** de los extractos etanólico y metanólico de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo)
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 Extractos etanólico y metanólico de rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo)	Producto obtenido luego de la maceración de las partes vegetales en alcohol al 70% por un periodo de tiempo, en este caso entre 10 a 15 minutos, pasado este tiempo se lleva a una estufa a 40 °C para su concentración, hasta que se elimine el solvente, guardándolo en un envase de vidrio color ámbar para su adecuada conservación y almacenamiento.	Concentración al 25 %, 50 % y 75 % de los extractos etanólicos y metanólicos del rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo).	Concentración del extracto etanólico y metanólico	Extracto etanólico y metanólico al 25% Extracto etanólico y metanólico al 50% Extracto etanólico y metanólico al 75%	Intervalo	3	75 % 50 % 25 %
			Tamizaje fitoquímico	Presencia de metabolitos secundarios	Intervalo	5	++++ Abundante +++ Moderado ++ Leve + Escaso - Ausente

<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Actividad antifúngica in vitro frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 y <i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275</p>	<p>Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento y propagación de los hongos en estudio.</p>	<p>Sensibilidad antifúngica frente a los extractos etanólico y metanólico de rizoma de <i>Curcuma longa</i> L. (palillo) obtenida por medición del diámetro de los halos de inhibición.</p>	<p>Microbiológica</p>	<p>Halo de inhibición (mm).</p>	<p>Intervalo</p>	<p>2</p>	<p>-Crecimiento -Sin crecimiento</p>
---	---	---	-----------------------	---------------------------------	------------------	----------	--

Anexo D. Evidencias fotográfico del trabajo de campo

PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTO – ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

1. Recepción de muestra de rizoma de *Curcuma longa* L. (palillo)



2. **Pesado:** Se realizó el pesado de la muestra con una balanza granatoria



3. Selección, pelado y lavado: de rizoma de *Cúrcuma longa* L. (palillo)



Pelado de *Cúrcuma longa* L. (palillo)



Lavado de *Cúrcuma longa* L. (palillo)

4. Secado de rizoma de *Cúrcuma longa* L. (palillo) El secado de la muestra se realizo en una estufa a una temperatura de 55°, como se indica en el plan de tesis.



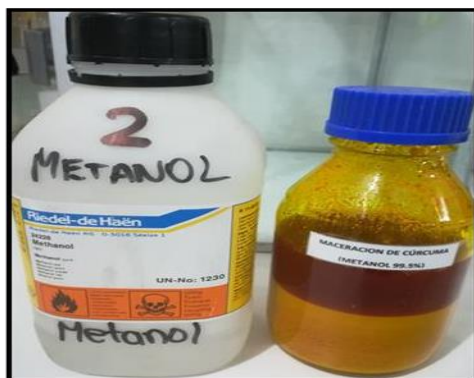
5. Muestra seca; El peso de la muestra seca total tuvo un valor de 3 kg



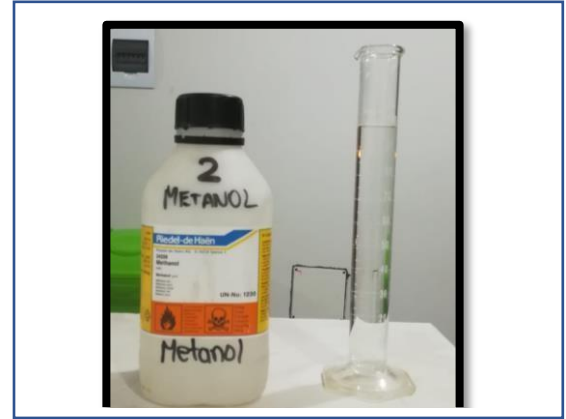
6. Molienda: En esta etapa se procedió a moler el total de la muestra seca



- **7. Maceración:** Tuvimos una muestra seca de 250g de cúrcuma molida, se procedió a pesar 125g para la maceración a base de **etanol** y 125 g de cúrcuma molida para la maceración a base de **metanol**, según lo especificado en el plan de tesis.



Se agregó 300 ml de metanol al 99 % y etanol al 96 % respectivamente, en frascos de vidrio de 500 ml para la etapa

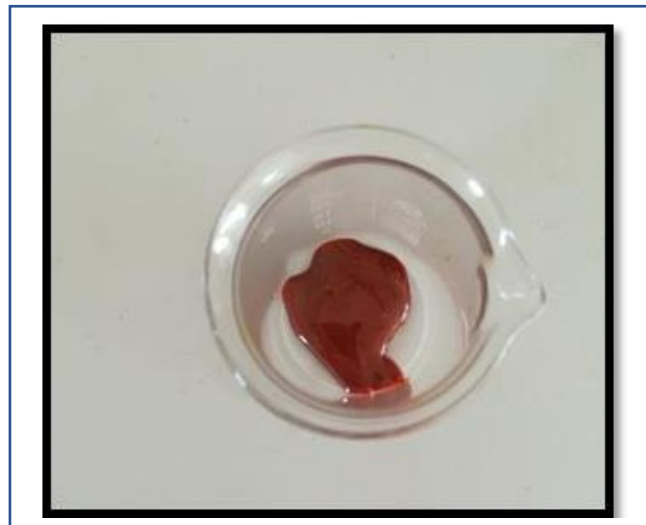


Ambos macerados permanecieron durante 14 días a temperatura ambiente



Transcurridos los 14 días, se trasvasó el sobrenadante para la etapa de evaporación

8. Evaporación ; Se procedió con la evaporación de los sobrenadantes de la maceración de metanol y etanol hasta alcanzar el punto mayor de concentración (extracto seco)



9. ANÁLISIS FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO:

Se realizó el análisis fitoquímico del extracto utilizando el método descrito en el Anexo A (CARACTERIZACION FITOQUIMICA DE PROSOPIS FLEXUOSA, 2013)

a. Prueba de taninos – METANOL (-), ETANOL (-):



b. Prueba de OH Fenólicos – METANOL (+), ETANOL (+++):



c.Prueba de saponinas poder tenso activo - METANOL (+), ETANOL (+):



d.Prueba de saponinas poder emulsificante – METANOL (+++), ETANOL (+++):



e.Prueba de flavonoides – Shinoda – METANOL (+), ETANOL (+):



f. Prueba Flavonocidos AICI₃ – METANOL (-), ETANOL (-):



g. Prueba Flavonoides – Acetato de Plomo – METANOL (+++), ETANOL (++):



h. Prueba Alcaloides – Dragendorff – METANOL (++) , ETANOL (+++):



i.Prueba Antraquinonas Naftoquinona – Bortrager – METANOL (+++), ETANOL (+++):



10. PREPARACION DE EXTRACTOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES:



ENSAYO DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

1. Cepas solicitadas

Candida albicans ATCC 90028 y
Aspergillus niger ATCC 6275.



2. Material operativo



3. Preparación de Material operativo:



Preparación de Medio de Cultivo	Preparación de discos de difusión	Preparación de Cepa	Preparación de Implementos
 		 	

4. Proceso de Ensayo Microbiológico

		hidratar las Cepas
	6 placas por cada concentración de extracto	
	dilución de cepa	
Siembra en las placas de Mueller Hinton Agar	colocar los discos de difusión	
		

5. Lectura de Resultados

