AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Luis Fernando Diaz Chilon, con DNI **75886271**, en micondición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en surepositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO** ¹ que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 14 % 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.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 03 días del mes de enero del año 2023.

Luis Fernando Díaz Chilon 75886271 Dr. Neuman Mario pineda Pérez 09410930

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

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo,_Susy Johana Terrones Avila, con DNI <u>75866334</u>, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO** ² que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 14 % 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.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 03 días del mes de enero del año 2023.

Dr. Neuman Mario pineda Pérez 09410930

Susy Johana Terrones Avila 75866334

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

TESIS ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE Ocimum basilicum L.

INFORME DE ORIGINALIDAD INDICE DE SIMILITUD FUENTES DE INTERNET TRABAJOS DEL **ESTUDIANTE** FUENTES PRIMARIAS repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de internet hdl.handle.net Fuente de Internet repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet



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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Ocimum basilicum* L. (ALBAHACA) FRENTE A *Escherichia coli* ATCC 25922, IN VITRO

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES

Bach. DIAZ CHILÓN, LUIS FERNANDO
https://orcid.org/0000-0002-8283-461X
Bach. TERRONES ÁVILA, SUSY JOHANA
https://orcid.org/0000-0001-6770-5310

ASESOR

Mg. PINEDA PÉREZ, NEUMAN MARIO https://orcid.org/0000-0001-6818-7797

LIMA – PERÚ

2023

DEDICATORIA

A mi querida madre María, por ser la fuente de inspiración en todo lo que soy, por haber confiado en mí y por dar todo de ella para que yo pueda salir adelante, por sus valores y tantos consejos, que los necesite en el momento adecuado, por sus ejemplos y su perseverancia constante que han sido el motivo para ser una persona de bien.

A mis compañeros, colegas y amigos, son demasiadas las personas especiales en mi vida, a las que admiro y estoy agradecido por su amistad, lealtad y enseñanza. Darles las gracias a ellos por formar parte de mi vida y por haberme brindado su amistad y paciencia en esta larga etapa de mi vida.

LUIS DIAZ CHILÓN

A mí querida madre Emperatriz, por haberme apoyado siempre y por confiar plenamente en mí.

A mi hermana, amigos y compañeros, por su apoyo y compañía en cada parte de mi vida, algunos de ellos no están aquí conmigo, pero están en mis recuerdos y mi corazón, y si un día llegan a leer esta dedicatoria quiero darles las gracias por formar parte de mi vida y que sin ellos no sería la persona que soy.

SUSY TERRONES ÁVILA

AGRADECIMIENTO

Este proyecto está dedicado a Emperatriz y María (también conocidos como abue y mami) por darnos todo lo que una persona necesita en la vida para ser feliz y por enseñarnos que la perseverancia y el trabajo duro... es el secreto de todos los triunfos.

ÍNDICE GENERAL

		Página
RESUM	<u>IEN</u>	xi
ABSTR.	<u>ACT</u>	xii
<u>I. INT</u>	RODUCCIÓN.	13
<u>II.</u> <u>MA</u>	TERIALES Y MÉTODOS	19
<u>II.1.</u>	Enfoque y diseño de la investigación	19
<u>II.2.</u>	Población, muestra y muestreo	19
<u>II.3.</u>	Variables de investigación	20
<u>II.4.</u>	Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	20
<u>II.5.</u>	Plan metodológico para la recolección de datos	21
<u>II.6.</u>	Procesamiento del análisis estadístico	24
<u>II.7.</u>	Aspectos éticos	24
III. RE	SULTADOS	25
IV. DIS	SCUSIÓN	33
<u>IV.1.</u>	<u>Discusión de Resultados</u>	33
<u>IV.2.</u>	<u>Conclusión</u>	36
<u>IV.3.</u>	<u>Recomendaciones</u>	36
REFER	ENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
<u>ANEXO</u>	<u>S</u>	40
Anex	co A. Instrumento de recolección de datos	
Anex	κο B. Matriz de consistencia	

Anexo C. Operacionalización de las variables

Anexo E. Constancia de identificación botánica

Anexo F. Carta de aceptación del laboratorio

Anexo G. Base de datos procesada mediante SPSS ver. 26.

Anexo H. Fotografías de la ejecución de la investigación

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum basilicum</i> L.	
(albahaca) en diferentes solventes	25
Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas	
de Ocimum basilicum L. (albahaca)	26
Tabla 3. Análisis estadístico descriptivo de los datos recolectados en función de la	<u>a</u>
<u>media</u>	27
Tabla 4. Análisis de la distribución normal de los datos analizados por grupo de	
<u>trabajo.</u>	28
Tabla 5. Análisis de la homogeneidad de varianzas para los grupos de trabajo	
mediante la prueba estadística de Levene	28
Tabla 6. Análisis de la varianza (ANOVA)	29
Tabla 7. Análisis de Tukey para comparaciones múltiples	30
Tabla 8. Análisis por subgrupo homogéneos mediante la prueba de Tukey	31
Tabla 9. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	32

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.Recolección de la muestra	49
Figura 2. Lavado y desinfección de la especie vegetal	49
Figura 3. Secado a temperatura ambiente	50
<u>Figura 4. Pulverizado y Tamizado</u>	50
Figura 5. Filtrado del macerado	51
Figura 6.Evaporación del solvente:	51
Figura 7. Marcha fitoquímica	51
Figura 8.Activación de la cepa:	52
Figura 9. Aplicación de los extractos	52

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*.

Metodología: La investigación se basó en un enfoque cuantitativo, de diseño experimental, prospectivo, la población de estudio estuvo conformada por 5 kg. de *Ocimum basilicum* L. (Albahaca) obtenida del distrito de Bagua, provincia de Bagua, del departamento de Amazonas, con una muestra representativa de 2 kg. de la planta obtenida según criterios de inclusión y exclusión.

Resultados: Los metabolitos identificados fueron alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y triterpenos; por otro lado, los halos de inhibición promedio encontrados fueron para los grupos experimentales 17,33mm DS: 0,36mm (50%); 21,18mm DS: 0,40mm (75%); 24,56mm DS: 0,55mm (100%); con respecto a los grupos control se obtuvo 6,13mm DS: 0,18mm (Negativo) y 25,19mm DS: 0,50mm (Positivo).

Conclusiones: Se determinó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*.

Palabras clave: *Ocimum basilicum, Escherichia coli,* albahaca, actividad antibacteriana, extracto etanólico

ABSTRACT

Objective: To determine the antibacterial activity of the ethanolic extract of the leaves of Ocimum basilicum L. (basil) against Escherichia coli ATCC 25922, In vitro.

Methodology: The research was based on a quantitative approach, with an experimental, prospective design, the study population consisted of 5 kg. of Ocimum basilicum L. (Basil) obtained from the district of Bagua, province of Bagua, department of Amazonas, with a representative sample of 2 kg. of the plant obtained through non-probabilistic sampling.

Results: The identified metabolites were alkaloids, phenolic compounds, tannins, flavonoids and triterpenes; On the other hand, the average inhibition halos found for the experimental groups were 17.33mm SD: 0.36mm (50%); 21.18mm SD: 0.40mm (75%); 24.56mm SD: 0.55mm (100%); With respect to the control groups, 6.13mm SD: 0.18mm (Negative) and 25.19mm SD: 0.50mm (Positive) were obtained.

Conclusions: The antibacterial activity of the ethanolic extract of the leaves of Ocimum basilicum L. (basil) against Escherichia coli ATCC 25922, In vitro, was determined.

Keywords: Ocimum basilicum, Escherichia coli, basil, antibacterial activity, ethanolic extract

I. INTRODUCCIÓN

Algunas enfermedades son producidas al ingerir alimentos y/o agua contaminada por bacterias capaces de producir una infección en los humanos y afectar su salud. Uno de los principales agentes causantes es la bacteria *Escherichia coli,* la cual puede llegar a ocasionar intoxicaciones alimentarias muy graves al producir la toxina Shiga, la cual daña la mucosa intestinal produciendo diarrea sanguinolenta, fiebre, vómitos, calambres abdominales e incluso síntomas fatales. Ante esta situación la Organización Mundial de Salud considera a este tipo de bacteria de gran preocupación por los brotes que frecuentemente se genera a nivel mundial¹.

Los datos publicados en el año 2019 consideran a la bacteria *Escherichia coli* como el agente causal de infecciones diarreicas, convirtiéndose en la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años, con cifras anuales de 525 000 niños muertos a nivel mundial. En México, el sistema de vigilancia en el periodo 2008 y 2017 registró anualmente entre 5 a 6 millones de casos nuevos de enfermedades diarreicas por alimentos, asimismo, las personas malnutridas o inmunocomprometidas tienen mayor riesgo de infecciones diarreicas altamente letales por *Escherichia coli*².

En el Perú el coprocultivo es el método de diagnóstico más usado para identificar *Escherichia coli*, no obstante, su presencia no es correctamente interpretada, ya que es un microorganismo que se encuentra en la flora intestinal y urinaria del hombre, por tanto, muchas veces se omite su capacidad patogénica. En el año 2019 en Lambayeque se generó un reporte donde se identificaron genes virulentos de *Escherichia coli* asociados a los cuadros clínicos diarreicos³.

Un estudio realizado en la ciudad de Lima en mujeres, las cuales fueron en el Instituto Nacional Materno Perinatal en el 2018, mostró que existe alta resistencia al ciprofloxacino, seguidos por ampicilina y luego cotrimoxazol; no se observó resistencia a cabapenémicos, también se observó en el 28.9% de las muestras presentaron cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido y 53.6% de cepas multidrogorresistentes, además se evidencia un mayor porcentaje de resistencia en los pacientes hospitalizados en comparación con los ambulatorios, mostrando un incremento de estos índices tanto a nivel hospitalario como ambulatorio⁴.

Por otro lado, en la ciudad de Lambayeque se evaluó la asociación de los factores

asociados a las diarreas en niños encontrándose que existe un porcentaje elevado en las muestras de cepas de *Escherichia coli* las que mostraron en el 37.74% genes de virulencia con un 16.98% representados por el gen daaD del patotipo *Escherichia coli* difusamente adherente - DAEC³.

La actividad antibacteriana es una propiedad o acción eficaz que ejerce una determinada sustancia o fármaco para inhibir o matar el crecimiento de una bacteria, con el objeto de prevenir y dar tratamiento a las personas en casos de enfermedades; la misma que puede ser medida cuantitativamente mediante pruebas in vitro, además, puede ser comparada con varias sustancias mediante diferentes métodos microbiológicos⁵.

Ocimum basilicum L. (albahaca), es una especie vegetal clasificada dentro de la familia Labiaceae, la cual presenta propiedades medicinales, con un olor agradable y presenta una altura de más o menos 60 centímetros. La albahaca es una hierba anual que se adapta a varios climas incluso soporta altitudes hasta los 1500 m.s.n.m. Su procedencia radica en continente asiático. Sus hojas son pequeñas, ovaladas y dentadas, su inflorescencia se agrupa en ramilletes con tonos blancos o rosados. Presenta varias actividades medicinales debido a sus

metabolitos que contiene (linalolol, eugenol, cineol, linalool, mirceno), además de presentar fenoles, alcaloides, terpenoides, aldehídos, flavonoides, esteroides, glucósidos, aceites esenciales, saponinas y taninos. La presencia de estos compuestos hace que la albahaca sea una de las plantas más utilizadas en aromaterapia, perfumería, cosmética, en la industria farmacéutica y en la cocina⁶.

Por otro lado, diversos estudios han demostrado que los componentes activos de los extractos etanólicos de Ocimum basilicum L. (albahaca), son metil chavicol o cinamato de metilo, así como el trans-metil cinamato, acetato de linalol, metil chavicol, eugenol, trans-a-bergamoteno, 1,8-Cineol, Linalool y otros, también existe muchas variedades de compuestos están disponibles en el aceite esencial de albahaca, como el eugenol, estragol y linalool, así mismo, se observa es probable que el principal agente con actividad antibacteriana sea linalool¹.

Por otro lado, *Escherichia coli* es parte de la flora intestinal comensal y también se encuentra en los pisos de los hospitales y centros de atención a largo plazo, *Escherichia coli* es la bacteria gramnegativa más común en el tracto gastrointestinal humano y carece de virulencia en este entorno. Sin embargo, cuando se encuentra fuera del tracto intestinal, *Escherichia coli* puede causar infecciones del tracto urinario (ITU), neumonía, bacteriemia y peritonitis, entre otros⁷.

Escherichia coli es una causa importante de infecciones nosocomiales, incluidas las infecciones urinarias asociadas al catéter y la neumonía asociada al ventilador (VAP). Escherichia coli también se puede encontrar en el suelo, en las verduras y en el agua, así como en las carnes poco cocidas. Las cepas patógenas causan enfermedades intestinales en los seres humanos cuando se ingieren⁸.

La actividad antimicrobiana del extracto de hoja de *Ocimum basilicum* fue estudiada por Amjad Khalil, donde se demostró esta planta presenta actividad contra 2 bacterias patógenas como son *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, *l*a actividad antimicrobiana se evaluó midiendo la zona de inhibición, la mayor actividad de inhibición del extracto de hoja se observó contra *Escherichia coli*, a 200 mg/mL para la concentración mínima inhibitoria (CMI), así mismo, siguió *Staphylococcus aureus* que mostró una CMI a 200 mg mL/1 de extracto de hoja².

Las plantas medicinales, ya sea como compuestos puros o como extractos estandarizados, con fuente inigualable de recursos debido a la gran variedad de metabolitos secundarios que presentan. Debido a una creciente demanda de diversidad química en los programas de detección, la búsqueda de medicamentos terapéuticos de productos naturales, el interés particularmente en las plantas comestibles ha crecido en todo el mundo. Los productos botánicos y las preparaciones herbales para uso medicinal contienen varios tipos de compuestos bioactivos. Según la OMS, un porcentaje superior al 80% de la población recibe tratamiento medicinal a partir de las plantas medicinales⁹.

El presente estudio se sustentará con antecedentes internacionales como:

Campelo C. et al, (2018), realizaron una "evaluación fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum gratissimum* L.", los cuales fueron obtenidos por medio del método de maceración en etanol de 96° GL, el estudio fitoquímico empleado fue el planteado por García E, et al. (1998). Los resultados encontrados a través de los ensayos fitoquímicos realizados se observó la presencia de alcaloides, catequinas y taninos pirocate-cólicos, por otro lado, se observó la ausencia de flavonoides, saponinas, antraquinonas y cumarinas¹⁰.

Saltos M. et al (2019), realizaron su estudio con el propósito de realizar una "caracterización microbiológica con los aceites esenciales de *Ocimum sanctum* y un análisis fitoquímico con los extractos de *Ocimum sanctum* (albahaca morada)". Los resultados mostraron la presencia de alcaloides, antocianinas, flavonoides, fenoles y taninos, los cuales destacan por sus propiedades antibacterianas y el estudio microbiológico mostró que el aceite en concentraciones de 100%, extraído por Clevenger, formó un halo de 20mmcontra las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella*¹¹.

También Singh D, Chaudhuri P (2018), en su investigación acerca de las "propiedades fitoquímicas y farmacológicas de la albahaca santa (*Ocinum sanctum* L.)", observó que esta especie presenta más de 60 compuestos químicos de *O. sanctum*, incluyendo fenólicos, flavonoides, propanoides fenilo, terpenoides, derivados de ácidos grasos, aceite esencial, aceite fijo y esteroides, además presenta actividades anticancerígenas, antioxidantes, antibacterianas, antiinflamatorias, antiestrés, γ-irradiación, antidiabéticas y antileishmanicidas,

A nivel nacional, se citan los siguientes autores:

Malca A, et al (2021), en su investigación tuvieron como objetivo determinar si el "extracto etanólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) presenta actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*". De acuerdo con el resultado, el extracto etanólico de albahaca al 100% presentó un diámetro de inhibición de 14.87mm y al 50% 11.43mm sobre *S. aureus*, de la misma manera el extracto de albahaca al 100% y 50% presento halos de 23.67mm y 18.87mm respectivamente sobre *Escherichia coli*, lo que afirma su actividad antibacteriana sobre las dos bacterias estudiadas¹³.

Vásquez E. et al (2021), elaboraron una tesis con el objetivo de determinar el "efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) sobre *Candida albicans* y *Escherichia coli*". De acuerdo con el resultado, el extracto etanólico al 100% frente a *C. albicans* presentó un halo de 15.72mm y al 50% un halo de 13.06mm y para *Escherichia coli* el extracto al 100% mostró un halo de 13.92mm y al 50% 10.88mm, por lo tanto, el extracto etanólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) si presenta efecto antimicrobiano sobre *Candida albicans* y *Escherichia coli*, pero su efecto es menor comparado con el ciprofloxacino¹⁴.

Flores L. (2018), elaboro su tesis con el objetivo de evaluar si el "extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum* "Albahaca" tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 27923 comparado con Ciprofloxacino". Los resultado encontrados en el estudio, demostraron que el extracto etanólico de *Ocimum basilicum* "albahaca" al 100% tiene efecto antibacteriano presentado un halo de inhibición de 13.53mm sobre cultivos de *Escherichia coli* y el ciprofloxacino su halo fue de 36.41mm siendo mayor que el extracto¹⁵.

El objetivo general del estudio es:

Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*.

Así mismo, la hipótesis general formulada del estudio es:

El extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*.

El presente estudio tiene una justificación sustentada en el propósito de aportar con un nuevo conocimiento sobre las propiedades de antibacterianas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca), en su forma de extracto etanólico al enfrentarlo frente a

Escherichia coli, los resultados encontrados en el estudio permitirán evaluar el tratamiento de las enfermedades causadas por esta bacteria mediante el empleo de los extractos de la planta o el uso conjunto de esta planta con los antimicrobianos, lo que permitirá reducir costos en el tratamiento, reducir el riesgo de resistencia bacteriana, disminuir las reacciones adversas ocasionadas por los medicamentos, repercutiendo tanto para el sector salud como en la población en el aspecto económico.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación

El enfoque es cuantitativo, las variables del estudio luego de ser cuantificadas fueron analizadas estadísticamente en base a sus valores numéricos obtenidos¹⁶

El diseño es experimental, en la medida que las variables serán modificadas o manipuladas deliberadamente para determinar su relación de causalidad¹⁷.

El tipo de investigación corresponde a la transversal, prospectiva debido a que los datos serán recolectados en un solo periodo de tiempo y estos serán obtenidos luego del planteamiento del estudio en la etapa de ejecución¹⁸.

II.2. Población, muestra y muestreo

Población:

La población de estudio estuvo conformada por 5 kilogramos de la especie vegetal de *Ocimum basilicum* L. (Albahaca) cultivada en el distrito de Bagua, provincia de Bagua, del departamento de Amazonas, ubicada a 5°38'0" de latitud Sur y 78°32'0" Longitud Oeste.

La identificación de la especie botánica fue realizada por un profesional biólogo botánico con experiencia en identificación taxonómicas de especies vegetales de la Universidad Mayor de San Marcos, quien identificó la muestra remitida y proporcionó la certificación correspondiente.

Muestra:

La cantidad de muestra empleada para la investigación corresponde a 2 kilogramos de hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca), la cual se obtuvo considerando los criterios de inclusión y exclusión detallados a continuación.

Criterios de inclusión

- La muestra debe estar previamente identificada
- Debe poseer características similares (tamaño, forma, color)
- Recolectada directamente de la planta

Criterios de exclusión:

- Debe corresponder al lugar considerado en la población
- Prestar infestación por plagas

Unidad de análisis: Estuvo conformada por *Escherichia coli* ATCC 25922, la que fue proporcionada por el laboratorio microbiológico Microcllin SRL, el mismo que proporcionó la certificación de la cepa en estudio.

El muestreo seleccionado en la investigación fue el no probabilístico, por conveniencia debido a la facilidad de acceso y disponibilidad del investigador.

II.3. Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico de las hojas de Ocimum basilicum L. (albahaca).

Definición conceptual: Producto obtenido por proceso físico que contiene los metabolitos secundarios de *Ocimum basilicum* L. (albahaca)

Definicion operacional: Maceración con etanol 96° a temperatura ambiente

Variable dependiente: Actividad antibacteriana frente a Escherichia coli ATCC 25922, In vitro.

Definición conceptual: Inhibición en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante la acción del extracto.

Definicion operacional: Medición del tamaño del halo de inhibición.

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

La técnica empleada fue la observación.

El instrumento fue la ficha de recopilación de datos.

Ficha de recolección de datos - Microbiología: Se registraron los tamaños de los halos de inhibición obtenidos por medio del efecto del extracto, el cual estuvo conformado por dos grupos, divididos en experimentales (50%, 75% y 100%) y controles (negativo y positivo). La ficha de recolección de datos fue modificada del estudio de Cosio H, Rodriguez H (2017)¹⁹

Ficha de recolección de datos - Solubilidad: Donde se registraron los resultados de la solubilidad del extracto a diferentes solventes los que se

agruparon por su solubilidad. La ficha fue elaborada por los investigadores.

Ficha de recolección de datos - Fitoquímico: Donde se registraron los resultados obtenidos en cuanto al tipo de identificación del metabolito, el tipo de ensayo realizado, el color obtenido y la intensidad encontrada. La ficha fue adaptada del estudio de Vásquez E, Chuquilin A (2021)¹⁴

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1 Recolección de la muestra

La muestra se recolectó según los criterios de inclusión y exclusión directamente de la zona de cultivo y fue transportada en papel kraft al laboratorio donde se lavó con abundante agua y desinfectó con una solución de hipoclorito 0.1%, para luego ponerse a secar bajo sombra sobre papel por 24 horas, las hojas luego fueron colocadas en estufa para su deshidratado completo y posterior pulverización.

II.5.2. Elaboración del extracto

Se realizó según el método propuesto por Flores L (2018)²⁰, el extracto fue obtenido por medio de la maceración del pulverizado de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca) el cual fue realizado en un molino de cuchillas con posterior tamizado, luego el tamizado fue colocado en maceración por 10 días y filtrado mediante papel de filtro, el filtrado fue evaporado en estufa a 45°C y se obtuvo de esta manera el extracto seco, el cual fue reconstituido con etanol a las concentraciones de 50%, 75% y 100%.

II.5.3. Prueba de solubilidad

Se realizó según la técnica empleada por Saravia D, Quilash F (2019)²¹, en la cual el extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum L*. (albahaca) fue expuesto en la determinación de la solubilidad aplicando 1ml de cada solvente (agua, etanol, metanol, cloroformo, acetona, alcohol terbutilico, dimetilsulfoxido), la solubilidad se registró en la ficha de recolección de datos indicando el tipo de solubilidad: insoluble, medianamente soluble y soluble.

II.5.4. Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica que se empleó fue la propuesta por Vásquez E, Chuquilin A (2021)¹⁴ en su trabajo de investigación, el cual sigue la siguiente

metodología.

Identificación de alcaloides.

Reacción de Dragendorff. Se empleó para la identificación de alcaloides presentes en el extracto etanólico de la planta, para lo cual se colocó 1 ml del extracto al 100% en un tubo de ensayo y se agregó III gotas del reactivo de Dragendorff por las paredes del tubo, la aparición de una coloración naranja ladrillo, indica una reacción positiva.

Ensayo de saponinas.

Se tomó 1 ml del extracto al 50% y colocó en un tubo de ensayo, luego se agregó 5 ml de agua destilada, y agitó vigorosamente por 5 minutos, luego se dejó en reposo, la presencia de espuma de más de 2mm y más de 2 minutos, es confirmatorio de la presencia de saponina.

Identificación de flavonoides. (Shinoda)

Para esta determinación se empleó el reactivo de Shinoda, se tomó 1 ml del extracto etanólico de la muestra y colocar 1 ml de Ac. Clorhídrico concentrado por las paredes del tubo, luego se agregó un pedazo de cinta de magnesio metálico, espera 5 minutos y agregar un mililitro de alcohol isoamílico por las paredes del tubo. La presencia de una coloración amarillo, naranja o rojo intenso en la interfase demuestra la presencia de flavonoides.

Identificación de compuestos fenólicos y/o taninos.

En esta prueba se aplicó el reactivo de tricloruro férrico, para lo cual se colocó una alícuota de 1 ml del extracto etanólico de la planta y se agregó acetato de sodio hasta Ph neutro, luego se aplicó III gotas del reactivo tricloruro férrico al 5%, la formación de una coloración rojo-vino, indica la presencia de taninos, del tipo pirocatecólicos, un color verde intenso, indica la presencia de taninos del tipo pirogalactánicos y un color azul indica la presencia de compuestos fenólicos.

Identificación de polisacáridos.

Se tomó una cantidad de 2 ml del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca) y agregó en un tubo de ensayo de vidrio, se llevó una temperatura de 0°C a 5°C en una refrigeradora, luego de permanecer por 20 minutos se retiró de la refrigeradora y observó la formación de una

consistencia gelatinosa que correspondería a la reacción positiva para la determinación de mucilagos.

Identificación de triterpenos y esteroides.

Para la determinación de estos compuestos se empleó el reactivo de Liebermann-Burchard, a 1 ml del extracto etanólico se agregó 0.5 ml de ácido acético y mezcló bien, luego se dejó caer IV gotas de ac. Sulfúrico concentrado por las paredes, hasta la aparición de una coloración rojorosado que confirma la reacción.

Identificación de aminoácidos

En esta reacción se tomó un mililitro del extracto etanólico y colocó en un tubo de ensayo, se agregará III gotas de reactivo de Ninhidrina 2% y luego se llevó a calentar por 10 minutos en baño maría a 60°C, la colocación azul violeta indica la presencia de aminoácidos.

Identificación de Quinonas.

Para la identificación de quinonas se tomó 1 gr del extracto seco y agregó 3 ml de cloroformo, luego se le agregó 1 ml de NaOH 5% y agitó, si la fase alcalina se torna a un color rosado, es confirmatorio de la presencia de quinonas.

II.5.5. Actividad antibacteriana

Se realizó siguiendo los procedimientos empleados por Cosio H, Rodriguez H (2017), para lo cual la determinación de la actividad antibacteriana se realizó por medio de difusión en pozo para lo cual primero se activó la cepa en agar MacConkey mediante la aplicación del liofilizado reconstituido con agua estéril empleando el método en estrías, luego se llevó a incubación por 48 horas a 36°C, luego de este periodo de tiempo se visualizó el crecimiento bacteriano.

Se tomaron dos asadas de las colonias formadas y se llevó a dilución con suero fisiológico a una concentración de 1.5 x 108 UFC mediante la comparación con el 0.5 del escalímetro de MacFarland.

De esta última dilución se realizaron los sembrados en placas con agar Miuller Hinton, y luego realizaron en 10 placas 3 pocitos y en otras 10 placas 2 pocitos, los que se emplearon para aplicar los tratamientos experimentales y controles respectivamente. En cada pocito se agregaron 35 uL de cada muestra y llevaron a incubación por 24 horas luego de los cuales se identificó los halos de inhibición y midieron para luego registrarlos en la ficha de recolección de datos.

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

El procesamiento del análisis estadístico se realizó empleado primero estadística descriptiva para mostrar el comportamiento de los datos recolectados, así mismo, se aplicó estadística inferencial para determinar la normalidad y distribución homogéneas de las varianzas mediante la aplicación de la prueba de Shapiro-Wilk y la prueba de Levene, para la contrastación de la hipótesis del estudio se aplicó la prueba de ANOVA y Tukey con un nivel de significancia de 0.05 empleando el programa estadístico SPSS versión 26.

II.7. Aspectos éticos

Por ser un estudio experimental in vitro con manejo de material biológico de alto riesgo, se aplicaron los criterios y principios de bioseguridad en el laboratorio siguiendo las guías y protocolos de los manuales internacionales en laboratorios de ensayo para evitar riesgo en las personas participantes; así mismo, se dispusieron de procesos para evitar la contaminación del medio ambiente con la contaminación de residuos biológico mediante las normales establecidos por el Ministerio de Salud. Los investigadores actuaron con originalidad el desarrollo del presente trabajo, en ese sentido, fueron los únicos responsables de su contenido, sometiéndose a las normasy sanciones que estipule la universidad en caso de incurrir en falta^{22,23}.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) en diferentes solventes

Solvente	Solubilidad
Agua destilada	+
Acetona	+
Cloroformo	-
Hexano	-
Etanol	++
Alcohol ter-butílico	-
Metanol	++

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

Soluble +++
Medianamente soluble ++
Débilmente soluble +
Insoluble -

En la tabla 1, se evaluó la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) en diferentes solventes donde se encontró que el extracto de la planta es medianamente soluble (++) a etanol y metanol; es soluble (+) a agua destilada y acetona e insoluble (-) a cloroformo, hexano y alcohol ter-butílico, esto muestra de manera general la conformación molecular polar que presentan los metabolitos secundarios contenidos en el extracto de la planta.

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de Ocimum basilicum L. (albahaca)

Metabolitos Secundarios	Reactivos	Reacción	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	Color naranja ladrillo	+
Quinonas	Borntrager	Coloración rosa-rojiso	-
Compuestos		Coloración rojo-vinoso	++
fenólicos	FeCl ₃		
Taninos		Coloración verdosa	+
Mucílagos		Aspecto gelatinoso	-
Flavonoides	Antocianidina	Anillo marron interfase	+
<u>Triterpenos</u> /	Liebermann	Coloración rojisa	+
Esteroides	Burchard		
Saponinas	Espuma	Formación de espuma	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

Ausente (-) Escaso (+) Moderado (++) Abundante (+++)

En la tabla 2 se aprecian los resultados obtenidos luego del estudio fitoquímico realizado al extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca), en el estudio se llegó a identificar mediante reacciones de coloración y precipitado la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y triterpenos, los únicos metabolitos que presentaron una cantidad moderada en relación a la intensidad del color formado fueron los compuestos fenólicos.

Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) a una concentración de 50%; 75% y 100% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*.

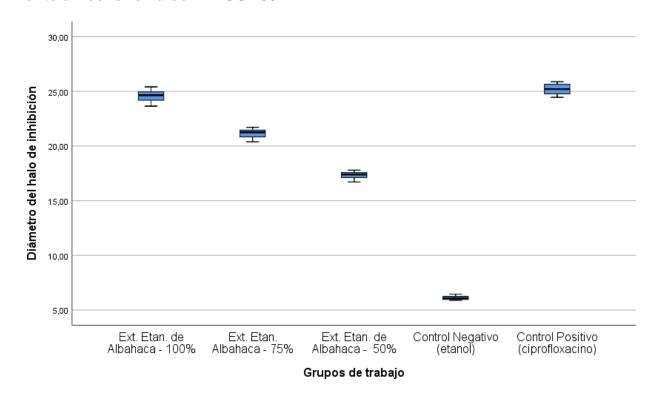
Tabla 3. Análisis estadístico descriptivo de los datos recolectados en función de la media

Diámetro del halo de inhibición (mm)

Diametro del halo de ministron (min)									
					95% Inter	valo de			
					confianza pa	ra la Media			
			Desv.	Error	Límite	Límite	-		
	N	Media	Estándar	Estándar	inferior	superior	Mínimo	Máximo	
Ext. etanol de Albahaca - 100%	10	24,56	0,55	0,17	24,16	24,95	23,65	25,41	
Ext. etanol Albahaca - 75%	10	21,18	0,40	0,13	20,89	21,47	20,38	21,71	
Ext. etanol de Albahaca - 50%	10	17,33	0,36	0,11	17,08	17,59	16,71	17,80	
Control Negativo (etanol)	10	6,13	0,18	0,06	5,99	6,26	5,90	6,46	
Control Positivo (ciprofloxacino)	10	25,19	0,50	0,16	24,83	25,55	24,45	25,88	

Fuente: SPSS ver. 26

Figura 1. Gráfico de cajas y bigotes con respecto a los halos de inhibición frente a Escherichia coli ATCC 25922



Fuente: SPSS ver. 26 Interpretación:

En la tabla 3, se muestran los estadígrafos obtenidos de los datos recolectados de 15 repeticiones para cada grupo experimental y control (media, desviación

estándar, límites de confianza, etc), obteniendo como resultados para los grupos

experimentales 17,33mm DS: 0,36mm (50%); 21,18mm DS: 0,40mm (75%); 24,56mm DS: 0,55mm (100%); con respecto a los grupos control se obtuvo 6,13mm DS: 0,18mm (Negativo) y 25,19mm DS: 0,50mm (Positivo). En la figura 1, se observa del mismo modo los promedios de los halos de inhibición de cada grupo y su rango de variación con respecto a la desviación estándar.

Tabla 4. Análisis de la distribución normal de los datos analizados por grupo de trabajo.

		Shapiro-Wilk			
	Grupos de trabajo	Statistic	df	Sig.	
	Ext. etanol de Albahaca - 100%	0,976	10	0,938	
	Ext. etanol Albahaca - 75%	0,943	10	0,582	
Diámetro del halo	Ext. etanol de Albahaca - 50%	0,912	10	0,292	
de inhibición (mm)	Control Negativo (etanol)	0,931	10	0,454	
	Control Positivo (ciprofloxacino)	0,936	10	0,510	

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

En la tabla 4, se muestra el análisis de los datos para la determinación de la distribución normal de cada grupo de trabajo mediante la prueba de Shapiro Wilk, se observa en todos los casos valores de signficancia superiores al valor de 0,05; por lo tanto, se confirma que existe distribución normal en grupos de datos procesados.

Tabla 5. Análisis de la homogeneidad de varianzas para los grupos de trabajo mediante la prueba estadística de Levene

-		Levene			
		Statistic	df1	df2	p-valor
Diámetro del	Se basa en la media	2,834	4	45	0,055
	Se basa en la mediana	2,261	4	45	0,077
halo de	Se basa en la mediana y con gl	2,261	4	35,352	0,082
inhibición	<u>ajustado</u>	_			
	Se basa en la media recortada	2,788	4	45	0,038

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

En la tabla 5, se muestra el análisis de los datos para la determinación comparativa de las varianzas homogéneas mediante la prueba de Levene, en cada grupo de trabajo mediante la prueba de Shapiro Wilk, donde el valor de significancia obtenido basado en la media de los grupos de datos es de 0,55, valor superior a la

significancia del estudio, por lo que se confirma que existen varianzas homogéneas en los grupos de datos analizados.

Comparación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) con ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*

PRUEBAS DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS:

H₀: Los extractos etanólicos de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) no presentan mayor actividad antibacteriana que el ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*

H₁: Los extractos etanólicos de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) presentan mayor actividad antibacteriana que el ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*

Tabla 6. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición										
Suma de cuadrados df Media al cuadrado F p-valor										
Entre grupos	2424,644	4	606,161	3422,160	0,000					
Dentro de grupos	7,971	45	0,177							
Total	2432,615	49								

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

En la tabla 6, se muestra el análisis de los datos mediante la prueba de ANOVA que permite demostrar la existencia de diferencias estadísticamente significativa entre los grupos de datos analizados, la tabla ANOVA muestra un p-valor de 0,00; para un valor F: 3422,160.

Análisis:

Siendo el p-valor (0,00) inferior al valor de significancia del estudio, se cumple que existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores promedio de los halos de inhibición de los grupos de datos analizados.

Tabla 7. Análisis de Tukey para comparaciones múltiples

Comparaciones múltiples

Variable

dependiente: Diámetro del halo de inhibición

HSD Tukey

(I) Grupos de trabajo		Diferencia de medias Desv. (I-J) Error			Intervalo de coi 95%	nfianza al Límite
				Sig.	Límite inferior	superior
	Ext. etanol Albahaca - 75%	3,38200 [*]	0,18822	0,000	2,8472	3,9168
Ext. etanol de Albahaca - 100%	Ext. etanol de Albahaca - 50%	7,22600 [*]	0,18822	0,000	6,6912	7,7608
.0070	Control Negativo (etanol)	18,43400 [*]	0,18822	0,000	17,8992	18,9688
	Control Positivo (ciprofloxacino)	-,63400 [*]	0,18822	0,013	-1,1688	-0,0992
	Ext. etanol de Albahaca - 100%	-3,38200 [*]	0,18822	0,000	-3,9168	-2,8472
Ext. etanol Albahaca - 75%	Ext. etanol de Albahaca - 50%	3,84400*	0,18822	0,000	3,3092	4,3788
	Control Negativo (etanol)	15,05200 [*]	0,18822	0,000	14,5172	15,5868
	Control Positivo (ciprofloxacino)	-4,01600 [*]	0,18822	0,000	-4,5508	-3,4812
Ext. etanol de	Ext. etanol de Albahaca - 100%	-7,22600 [*]	0,18822	0,000	-7,7608	-6,6912
Albahaca - 50%	Ext. etanol Albahaca - 75%	-3,84400 [*]	0,18822	0,000	-4,3788	-3,3092
	Control Negativo (etanol)	11,20800*	0,18822	0,000	10,6732	11,7428
	Control Positivo (ciprofloxacino)	-7,86000*	0,18822	0,000	-8,3948	-7,3252
Control Negativo	Ext. etanol de Albahaca - 100%	-18,43400 [*]	0,18822	0,000	-18,9688	-17,8992
(etanol)	Ext. etanol Albahaca - 75%	-15,05200 [*]	0,18822	0,000	-15,5868	-14,5172
	Ext. etanol de Albahaca - 50%	-11,20800 [*]	0,18822	0,000	-11,7428	-10,6732
	Control Positivo (ciprofloxacino)	-19,06800 [*]	0,18822	0,000	-19,6028	-18,5332
Control Positivo	Ext. etanol de Albahaca - 100%	,63400 [*]	0,18822	0,013	0,0992	1,1688
(ciprofloxacino)	Ext. etanol Albahaca - 75%	4,01600*	0,18822	0,000	3,4812	4,5508
	Ext. etanol de Albahaca - 50%	7,86000*	0,18822	0,000	7,3252	8,3948

^{*.} La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Interpretación:

En la tabla 7, se muestra el análisis de los datos mediante la prueba de Tukey por comparaciones múltiple, lo que permite comparar las medias la diferencia de las medias entre sí por grupo de familia.

Análisis:

Del análisis de la prueba se observa que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de todos los grupos de datos analizados.

Tabla 8. Análisis por subgrupo homogéneos mediante la prueba de Tukey

Diámetro de inhibición							
HSD Tukey ^a							
Grupos de trabajo N Subconjunto para alfa = 0.05							
		1	2	3	4	5	
Control Negativo (etanol)	10	6,13					
Ext. etanol de Albahaca - 50%	10		17,33				
Ext. etanol de Albahaca - 75%	10			21,18			
Ext. etanol de Albahaca - 100%	10				24,56		
Control Positivo (ciprofloxacino)	10					25,19	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	

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

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

En la tabla 8, se muestra el análisis por subgrupos homogéneos que representa el resumen del análisis de comparaciones múltiples de Tukey, donde permite comparar de manera más simple los valores promedio de los halos de inhibición, los que se encuentran agrupados en columnas

Análisis:

Del análisis de los datos se demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre todos los valores promedio de los halos de inhibición, así mismo, se observa que la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*, es mayor en el ciprofloxacino.

<u>Decisión</u>: Se rechaza la hipótesis H₁ y acepta la H₀, que indica que los extractos etanólicos de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) no presentan mayor actividad antibacteriana que el ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.

Tabla 9. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula < 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Sumamente sensible > 20 mm
Control Negativo (etanol)	6,13			
Ext. etanol de Albahaca - 50%			17,33	
Ext. etanol de Albahaca - 75%				21,18
Ext. etanol de Albahaca - 100%				24,56
Control Positivo (ciprofloxacino)				25,19

Interpretación:

En la tabla 9, se muestra la escala valorativa de Duraffourd para determinar la sensiblidad de *Escherichia coli* a los extractos etanólicos de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca), donde se observa que este microorganismo presenta sensibilidad nula al control negativo (etanol); es muy sensible para al extracto al 50% y sumamente sensible para el extracto a las concentraciones al 75%, 100% y ciprofloxacino.

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de Resultados

Las plantas medicinales siempre han sido fuente de investigación en la búsqueda de nuevos principios activos, así como alternativas de tratamiento para diferentes patologías, en ese sentido, el presente estudio busca a través de sus resultados servir de apoyo en la solución de una problemática actual como son las infecciones bacterianas, específicamente las producidas por *Escherichia coli*, en ese sentido, se empleó como variable de estudio el extracto etanólico de *Ocimum basilicum* L. (Albahaca) y evaluó su acción in vitro sobre esta bacteria, los resultados encontrados en el estudio se muestran y discuten a continuación.

Con respecto a la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) en diferentes solventes se encontró que el extracto de la planta es medianamente soluble (++) a etanol y metanol; es soluble (+)a agua destilada y acetona e insoluble, esto se logró evidenciar mediante las pruebas de solubilidad realizadas con el extracto y diferentes solventes de polaridad alta, media y baja, donde se logró demostrar que los metabolitos secundarios tienen características polares en su mayoría.

Con respecto a los metabolitos secundarios encontrados en el extracto etanólico de *Ocimum basilicum L*. (albahaca) mediante el estudio fitoquímico se pudo comprobar la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y escasos triterpenos, estos metabolitos presentan afinidad por el solvente (etanol) empleado, el cual se empleó para extraer estos metabolitos, así mismo, los metabolitos secundarios son los componentes de las plantas que le infieren las propiedades medicinales. Campelo C. et al, (2018) mediante un estudio fitoquímico realizado al extracto etanólico de las hojas de la especie *Ocimum gratissimum* L, lograron determinar la presencia de alcaloides, catequinas y taninos pirocate-cólicos, por otro lado, se observó la ausencia de flavonoides, saponinas, antraquinonas y cumarinas; los resultados se muestran similares a los encontrados en el estudio, con excepción de los flavonoides que si se encontraron en la especie *Ocimum basilicum L*. del estudio.

Por otro lado, Saltos y Veléz (2019) en su estudio fitoquímico si logro

determinar en los aceites esenciales de *Ocimum sanctum* (albahaca morada) la presencia de alcaloides, antocianinas, flavonoides, fenoles y taninos, los cuales destacan por sus propiedades antibacterianas, lo que evidencia que estos metabolitos le confieren a esta planta propiedades contra diferentes microorganismos. Así mismo, el estudio realizado por Singh D, Chaudhuri P (2018), logró determinar en la misma planta, la presencia de más de 60 compuestos químicos incluyendo fenólicos, flavonoides, propanoides fenilo, terpenoides, derivados de ácidos grasos, aceite esencial, aceite fijo y esteroides, además presenta actividades anticancerígenas, antioxidantes, antibacterianas, antiinflamatorias, antiestrés, γ -irradiación, antidiabéticas y antileishmanicidas, entre otras.

La riqueza de los compuestos químicos en esta especie brinda una gran oportunidad de estudio como fuente de numerosos usos en el campo de la salud y una enorme aplicación terapéutica.

Así mismo, la actividad antibacteriana de los extractos etanolicos a la concentración del 50%, 75% y 100% fue evaluado mediante el método in vitro de difusión en pozo, que nos permitió a través de la medición de los halos de inhibición producidos por los extractos sobre cultivos en placa Petri de *Escherichia coli*, comparar la actividad antibacteriana de los extractos. Los resultados encontrados para los grupos experimentales fueron de 17,33mm DS: 0,36mm para el extracto al 50%; de 21,18mm DS: 0,40mm para el extracto al 75%; de 24,56mm DS: 0,55mm para el extracto al 100%; con respecto a los grupos control se obtuvo 6,13mm DS: 0,18mm para el control negativo (etanol) y 25,19mm DS: 0,50mm para el control positivos (ciprofloxacino).

Malca A, et al (2021) mediante su estudio evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) a la concentración del 100% y 50% sobre *Escherichia coli*, obteniendo como resultados la formación de un halo de inhibición promedio de 23.67mm y 18.87mm respectivamente sobre *Escherichia coli*, confirmando su actividad antibacteriana sobre esta bacteria. Por otro lado, Vásquez E. et al (2021), encontró resultados diferentes al evaluar el extracto etanólico de albahaca frente a *Escherichia coli*, obteniendo halos de 13.92mm al 100% y al 50% 10.88mm, aunque ambos estudios confirman la actividad antibacteriana del extracto de albahaca sobre *Escherichia coli*, muestran diferente actividad

sobre la misma bacteria, que puede estar influenciada por la época de recolección de la muestra, el tiempo de maceración o la variedad.

Por otro lado, el aceite obtenido de la albahaca también fue estudiado por Saltos M. et al (2019), quien evaluó la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ocimum sanctum* mediante la formación de un halo de inhibición de 20 mm frente a la inhibición del crecimiento sobre *Escherichia coli*.

La actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas de Ocimum basilicum L. (albahaca) se compararon el medicamento ciprofloxacino, luego de analizar los datos recolectados para los grupos experimentales y control mediante las pruebas estadísticas, se determinó la distribución normal de los grupos (prueba de Shapiro Will) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene) luego se procedió a realizar el análisis de la comparación de las medias de los grupos de trabajo mediante la prueba de ANOVA y posteriormente la prueba de Tukey, lo que permitió confirmar que los extractos etanólicos de las hojas de albahaca presentan actividad antibacteriana, así mismo, se comprobó con una significancia de 0.05 que el ciprofloxacino presenta mayor actividad antibacteriana que los extractos en estudio. Al comparar los resultados encontrados con el estudio de Flores L. (2018), quien comparó de la misma forma la actividad antibacteriana de la planta contra ciprofloxacino, llegando a la misma conclusión, sobre la mayor actividad del ciprofloxacino sobre los extractos de albahaca en la bacteria en estudio.

Así mismo, los resultados se corroboraron mediante la comparación de los halos de inhibición con la escala establecida por Duraffourd, donde se encontró que *Escherichia co*li, sumamente sensible a los extractos etanolicos de albahaca al 75%, 100% y al ciprofloxacino, por otro lado, es muy sensible al extracto etanólico de albahaca al 50% y presenta sensibilidad nula al control negativo (etanol), estos datos, se muestran similares a los encontramos mediante el estudio estadístico de los datos.

IV.2. Conclusión

- ✓ Se identificaron como metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca), en escasa cantidad (+) a alcaloides, taninos, flavonoides y triterpenos, también se identificó en cantidad moderada (++) compuestos fenólicos.
- ✓ La actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas de Ocimum basilicum L. (albahaca) a una concentración de 50%; 75% y 100% frente a Escherichia coli ATCC 25922, In vitro, se relacionó con el tamaño del halo de inhibición los que fueron de 17,33mm DS: 0,36mm (50%); 21,18mm DS: 0,40mm (75%); 24,56mm DS: 0,55mm (100%).
- ✓ Al comparar el efecto de los extractos etanólicos de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) al 100% (24,56mm), 75% (21,18mm) y 50% (17,33mm) con ciprofloxacino (25,19mm) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*, se demostró que los extractos presentan menor actividad antibacteriana que el ciprofloxacino.

IV.3. Recomendaciones

- ✓ Comparar el efecto sinérgico de Ocimum basilicum L. (albahaca) frente a otros antibióticos para evaluar su efecto complementario en los tratamientos terapéuticos.
- ✓ Incorporar los principios activos de las plantas en formulaciones galénicas y demostrar mediante estudios in vitro su eficacia terapéutica.
- ✓ Extraer los metabolitos secundarios y evaluar su actividad antibacteriana por separado para determinar cuál de estos presenta mayor poder antimicrobiano
- ✓ Someter los extractos de Ocimum basilicum L. (albahaca) a diferentes microorganismos para evaluar su eficacia contra estos microorganismos y su potencial efecto curativo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. OMS. Escherichia coli [Internet]. Organizacion Mundial de la Salud. 2018 [cited 2022 Apr 24]. Available from: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli
- Olaiz G, Gómez E, Juárez A, Vicuña F, Morales J, Carrasco O. Panorama histórico de la enfermedad diarreica aguda en México y el futuro de su prevención. Salud Pública de México [Internet]. 2020 Mar 14 [cited 2022 Apr 24];62(1):25-35. Available from: https://doi.org/10.21149/10002
- 3. Yacarini A, Arriaga E, Alvarado R, Fupuy J. Genes de virulencia de Escherichia coli detectados en muestras diarreicas de niños de la Región Lambayeque Perú. Horizonte Médico (Lima) [Internet]. 2019 Mar 15 [cited 2022 Apr 24];19(1):7-12. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2019000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- 4. Blas W, Gerónimo I, Ulloa G, Huaman M, Pons M. Escherichia coli MULTIDROGORRESISTENTE EN UROCULTIVOS REALIZADOS EN EL INSTITUTO NACIONAL MATERNO PERINATAL DE LIMA, PERÚ. Isnstituto Nacional de Salud. 2021;38(4):668-9.
- 5. OMS. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Organizacion Mundial de la Salud. 2020 [cited 2022 Apr 24]. Available from: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance
- Purushothaman B, Prasannasrinivasan R, Suganthi P, Ranganathan B, Gimbun J, Shanmugam K. A comprehensive review on Ocimum basilicum. Journal of Natural Remedies [Internet]. 2018 Jul 1;18(3):71-85. Available from: http://ischolar.info/index.php/jnr/article/view/180485/167699
- 7. BETELGEUX. Escherichia Coli: características, patogenicidad y prevención (I) [Internet]. 2016. Available from: https://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/

- 8. Centros para el Control y la Prevencion de Enfermedades. La Escherichia coli. 2021.
- Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants' Extracts. African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines [Internet].
 2011 [cited 2022 May 6];8(1):1. Available from: /pmc/articles/PMC3218439/
- Campelo C, Pimentel L, Barbosa S. AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE Ocimum Gratissimum L. Encuentro Internacional de Jovenes Investigadores. 2018;3322(83):3222.
- 11. Saltos M, Veléz P. Vista de Caracterización físico-química, microbiológica y funcional de los extractos de la especie albahaca morada (Ocimum Sanctum). Revista Científica Ingenieria, tecnoligía e investigación [Internet]. 2019;2(4). Available from: https://journalingeniar.org/index.php/ingeniar/article/view/13/28
- 12. Singh D, Chaudhuri P. A review on phytochemical and pharmacological properties of Holy basil (Ocimum sanctum L.). Industrial Crops and Products. 2018 Aug 1;118:367-82.
- 13. Malca A, Osores J. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE Ocimum basilicum (ALBAHACA) SOBRE Staphylococcus aureus Y Escherichia coli, Chiclayo-2021 [Internet]. [Huancayo]: Universidad Privada Franklin Roosevelt; 2021 [cited 2022 Apr 24]. Available from: https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/535/TESIS% 20HERMAN%20y%20JANETH.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 14. Vasquez E, Chuquilin A. Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de Ocimum basilicum (albahaca) sobre Candida albicans y Escherichia coli [Internet]. 2021. Available from: http://50.18.8.108:8080/bitstream/handle/ROOSEVELT/562/TESIS-Erlita-Aureliano.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 15. Flores L. Efecto antibacteriano del extracto etanolico de Ocimun basilicum "albahaca" sobre Escherichia coli ATCC27923 comparado con ciprofloxacino [Internet]. 2018. Available from:

- https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25881/flores_chl.pd f?sequence=1&isAllowed=y
- 16. Pavón P, Gogeascoechea M. Metodología de la Investigación II. Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias de la Salud [Internet]. 2014 [cited 2022 May 16];44. Available from: http://sapp.uv.mx/univirtual/especialidadesmedicas/mi2/modulo1/docs/Diseñosde ...pdf
- 17. Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Available from: http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf
- 18. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación [Internet].
 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014. Available from:
 https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/me
 todologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf
- 19. Cosio H, Rodríguez H. Efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de albahaca (Ocimum basilicum) sobre el crecimiento de Actinomyces viscosus (In vitro effect of the hydroalcoholic extract of basil (Ocimum basilicum) on the growth of Actinomyces viscosus). Ciencia y Desarrollo. 2017 Jun 28;20(1):65.
- 20. Flores L. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Ocimun basilicum "albahaca" sobre Escherichia coli ATCC27923 comparado con ciprofloxacino. Universidad César Vallejo. 2018;0-2.
- 21. Saravia D, Quillash F. Extracto hidroalcoholico de acibar del Aloe Vera y su efecto antifungico sobre cultivos de Trichophyton rubrum Etudios in vitro. 2019.
- 22. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios. PAHO. 2016;
- 23. Organización Mundial de la Salud. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos. Red PARF Documento técnico N° 6. 2010;(6):87.

ANEXOS

Anexo A. Instrumento de recolección de datos

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Ocimum basilicum* L. (ALBAHACA) FRENTE A Escherichia coli ATCC 25922, IN VITRO

	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL		
Número de placas	100%	75%	50%	Control Negativo (etanol)	Control positivo Ciprofloxacino	
Placa N°01	24,63	20,38	17,80	6,46	25,88	
Placa N°02	25,07	20,83	16,80	5,99	24,77	
Placa N°03	24,19	21,25	17,42	5,97	25,30	
Placa N°04	24,85	20,78	17,58	6,03	25,65	
Placa N°05	23,86	21,46	17,71	6,33	25,59	
Placa N°06	24,95	21,53	16,71	6,19	24,54	
Placa N°07	25,41	21,41	17,41	5,90	25,11	
Placa N°08	24,32	21,27	17,12	6,26	24,45	
Placa N°09	24,66	21,71	17,39	6,15	25,67	
Placa N°10	23,65	21,15	17,39	5,97	24,97	

Anexo B. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Que actividad antibacteriana in vitro presenta el extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum</i> basilicum L. (albahaca) frente a <i>Escherichia</i> coli ATCC 25922, <i>In vitro</i>	El extracto etanólico de las hojas de Ocimum basilicum L. (albahaca) presentará actividad antibacteriana frente a Escherichia coli ATCC 25922, In vitro.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca)?	Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca)	El extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca) presentará metabolitos secundarios
¿Cuál será la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas de Ocimum basilicum L. (albahaca) en concentraciones de 50%; 75% y 100% frente a Escherichia coli ATCC 25922, In vitro?	Determinar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Ocimum basilicum</i> L. (albahaca) a una concentración de 50%; 75% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>In vitro</i> .	Los extractos etanólicos de las hojas de Ocimum basilicum L. (albahaca) a una concentración de 50%; 75% y 100% presentan actividad antibacteriana frente a Escherichia coli ATCC 25922, In vitro
¿Cuál será el efecto de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca) comparado con ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Comparar el efecto de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Ocimum basilicum</i> L. (albahaca) con ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>In vitro</i>	Los extractos etanólicos de las hojas de Ocimum basilicum L. (albahaca) frente a Escherichia coli ATCC 25922, In vitro presentan mayor actividad antibacteriana que el ciprofloxacino

Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONE S	INDICADORE S	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	
Extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum basilicum</i> L. (albahaca).	•	de las hojas de <i>Ocimum basilicum</i> L.		Porcentaje	Razón	3	100 75 50
Actividad antibacteriana frente a Escherichia coll ATCC 25922, In vitro.	Efecto que inhibe e crecimiento bacteriano de <i>Escherichia coli</i> ATCO 25922 mediante una simulación en e laboratorio	vernier digital del halo de inhibición	Halo de inhibición	Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

Anexo D. Protocolo de análisis de la cepa en estudio



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release Expiration Date: 2024/3/31 Release Specifications information: Microorganism Name: Escherichia coli Quality Control Technologist: Mary L Bowman Catalog Number: 0335 Release Date: 2022/4/8 Lot Number: 335-506" Reference Number: ATCC# 25922744 Purity: Pure Passage from Reference: 3 Performance Macroscopic Features: Medium: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic one is circular to irregular, SBAP convex, slightly erose edge & smooth, other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough Microscopic Features: Method: Gram negative straight rod Gram Stain (1) ID System: MALDI-TOF (1) Other Features/ Challenges: Results (1) Codase (Kovacs): negative See attached ID System results document. Beta-glucuronidase (E, coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicifin (10 mog - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mog - Disk Susceptibility): 19 - 25 mm (1) SXT (1.25/23.75 mog - Disk Susceptibility): 23 - 29 enm Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE "Declares: The lead digital of the lot humber appearing on the product label and packing slip are manely a packaging event number. The lot humber displayed on the performed in the school has a lot number.

Note for Vitakil: Although the Vitakil panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, contained with the abort incubation period; may produce results that differ from published results obtained by other resthods.

(i) Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazantheeloty information.

individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Demaities Entition, the ATCC Licensed Demaities accelerate and the ATCC catalog makes are trademarks of ATCC Unphase licenses to a serious trademarks and its self-products derived from ATCCS callings.



TESTING CERT #2655.01

(1) These tests are accessing to SO/EC 17025-2005.



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results

Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color	
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(***)	green	
1,70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yelow	
0.00 - 1.69	An Organization Management President	(+)	red	

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Run Creation Date/Time:

2020-03-27T11:51:17:542 KLH

Applied MSP Library(les):

BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-506	Escherichia coli	2.56

Comments:

closely related to Shigelia / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

Anexo E. Constancia de identificación botánica

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

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "ALBAHACA" proporcionada por los Bachilleres, SUSY JOHANA TERRONES ÁVILA y LUIS FERNANDO DIAZ CHILÓN, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada cientificamente y determinada como <u>Ocinum basilicum</u> L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: Ocimum

Especie: Ocimum basilicum L.

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

Lima, 05 agosto del 2022

Bigo. Hamilton Beltrán nilva Wilner Beltran Sanlago Finlago - Bolánico

Anexo F. Carta de aceptación del laboratorio



CARTA DE ACEPTACIÓN

EL QUE SUSCRIBE

Hace constar

Que, LUIS FERNANDO DIAZ CHIILÓN y SUSY JOHANA TERRONES ÁVILA, bachilleres en Farmacia y Bioquímica han sido aceptados por este laboratorio para realizar la ejecución de su trabajo de investigación titulado "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE Ocimum basilicum L. (ALBAHACA) FRENTE A Escherichia coli ATCC 25922, IN VITRO".

Trujillo, 16 de agosto del 2022

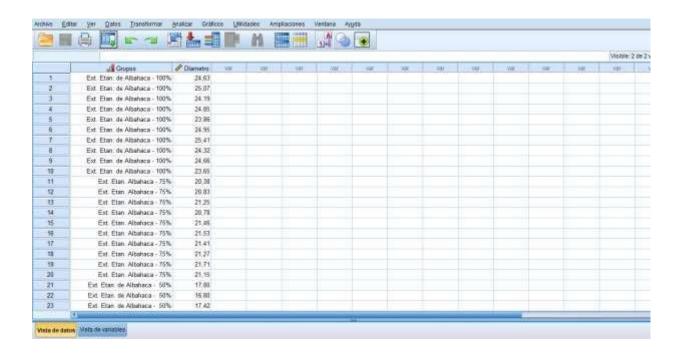


REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO NO ESTA PERMITIDA SIN LA AUTORIZACIÓN PREVIA Y EXPRESA DE MICROCLIN SRL.

EL LABORATORIO DE LA REGION

Marcial Acharán N° 587- Urb. Las Quintanas Telef.: 44 208302 Telefax 44 249115 Celular 948051687
Trujillo-Perú
Web: www.microclin.com
e-mail: microclin@microclin.com

Anexo G. Base de datos procesada mediante SPSS ver. 26



Anexo H. Fotografías de la ejecución de la investigación

Figura 1. Recolección de la muestra



Figura 2. Lavado y desinfección de la especie vegetal



Figura 3. Secado a temperatura ambiente





Figura 4. Pulverizado y Tamizado



Figura 5. Filtrado del macerado





Figura 6. Evaporación del solvente:





Figura 7. Marcha fitoquímica



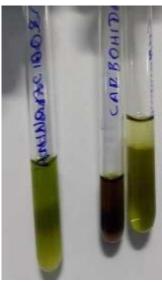




Figura 8. Activación de la cepa:



Figura 9. Aplicación de los extractos

