

## AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, LLANOS ESCOBAR ANA ROSA, con DNI 46296061, 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**<sup>1</sup> que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 16 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 22 días del mes de diciembre del año 2022.



---

LLANOS ESCOBAR ANA ROSA  
DNI: 46296061



---

Dr. JOSÉ EDWIN RODRÍGUEZ LICHTENHELDT  
DNI: 10734121

---

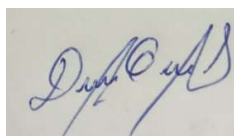
<sup>1</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución 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, GARCÍA SANDOVAL DEYSI MARILÚ, con DNI 77158108, 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**<sup>2</sup> que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 16 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 27 días del mes de enero del año 2023.



GARCÍA SANDOVAL DEYSI MARILÚ  
DNI: 77158108



Dr. JOSÉ EDWIN RODRÍGUEZ LICHTENHELDT  
DNI: 10734121

<sup>2</sup> 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

### FINAL

#### INFORME DE ORIGINALIDAD



#### FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://repositorio.uroosevelt.edu.pe">repositorio.uroosevelt.edu.pe</a> Fuente de Internet	7%
2	<a href="http://repositorio.uladech.edu.pe">repositorio.uladech.edu.pe</a> Fuente de Internet	3%
3	<a href="http://repositorio.uma.edu.pe">repositorio.uma.edu.pe</a> Fuente de Internet	3%
4	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	2%
5	<a href="http://repositorio.unfv.edu.pe">repositorio.unfv.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo



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

**EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS  
HOJAS DE *Piper aduncum* L. (MATICO) SOBRE  
*Streptococcus mutans* ATCC 25175, *IN VITRO***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

**AUTORES**

**Bach. GARCÍA SANDOVAL, DEYSI MARILÚ**

<https://orcid.org/0000-0001-9073-6799>

**Bach. LLANOS ESCOBAR, ANA ROSA**

<https://orcid.org/0000-0001-6657-0047>

**ASESOR**

**Dr. RODRIGUEZ LICHTENHELDT, JOSÉ EDWIN**

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

**Lima – Perú**

**2023**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo se lo dedico a Dios, por las bendiciones que derramó sobre mí para poder concluir mi tesis. A mi madre y hermanos, que, con su amor infinito, ejemplo de perseverancia y lucha supieron orientarme en mi formación. Así mismo dedico este trabajo a mi esposo e hija por su apoyo incondicional, quienes son fuente de inspiración; también deseo dedicar esta tesis a todos aquellos que me apoyaron y estuvieron presentes en el transcurrir de mi preparación profesional.

**ANA ROSA LLANOS ESCOBAR**

La presente tesis está dedicada a Dios, porque gracias a él he logrado concluir mi carrera, a mis padres porque ellos siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí una mejor persona, a mis hermanos por sus palabras de aliento y compañía, a mi esposo por su confianza en mí, a mis hijas Cielo y Estrella quienes han sido mi mejor motivación para nunca rendirme en mis estudios y poder llegar a ser un ejemplo para ellas.

**DEYSI MARILÚ GARCÍA SANDOVAL**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por brindarnos salud, fortaleza, sabiduría e inteligencia para cumplir con esta meta profesional. Al asesor por facilitarnos los conocimientos y pautas para la elaboración y sustentación de mi tesis

***Las autoras***

# ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	x
ABSTRACT .....	xi
I. INTRODUCCIÓN .....	12
II. “MATERIALES Y MÉTODOS .....	15
II.1. Enfoque y diseño de la investigación.....	15
II.2. Población, muestra y muestreo .....	15
II.3. Variables de investigación .....	16
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	16
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos .....	16
II.6. Procesamiento del análisis estadístico .....	18
II.7. Aspectos éticos” .....	18
III. RESULTADOS.....	19
IV. DISCUSIÓN.....	27
IV.1. Discusión de Resultados .....	27
IV.2. Conclusiones.....	30
IV.3. Recomendaciones.....	30
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	31
ANEXOS .....	33
ANEXO A: Instrumento de recolección de datos .....	34
ANEXO B: Matriz de consistencia .....	35
ANEXO C: Operacionalización de las variables .....	36
ANEXO D: Certificado taxonómico de la especie vegetal.....	37
ANEXO E: Certificado de calidad e la especie microbiológica.....	38
ANEXO F: Evidencias fotográficas .....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. a la concentración de 100mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	19
Tabla 2. Efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. a la concentración de 75mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	20
Tabla 3. Efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. a la concentración de 50mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	21
Tabla 4. Prueba De Distribución Normal Para Cada Grupo De Tratamientos .....	23
Tabla 5. Análisis de la Varianza (ANOVA) .....	24
Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey .....	25
Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd .....	26



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum L.</i> a la concentración de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	22
Figura 2. Recolección de la especie vegetal	40
Figura 3. Filtración del extracto metanólico	41
Figura 4. Obtención del extracto por evaporación del filtrado	41
Figura 5. Obtención de las concentraciones de trabajo para los grupos experimentales	42
Figura 6. Activación de la cepa de <i>Streptococcus mutans</i>	43
Figura 7. Preparación del inóculo de bacteriano y sembrado en placa	44
Figura: 8. Aplicación de los extractos metanólicos y sembrado en placa	45

## RESUMEN

**Objetivo:** Demostrar efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

**Método:** El método empleado en la investigación corresponde a un estudio cuantitativo, transversal, experimental, el cual tuvo como población de estudio estuvo conformada por 4 kg. de *Piper aduncum L.* (Matico) obtenido del distrito de Pomalca, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque, el extracto se obtuvo por maceración con una muestra de 1,5kg de hojas de la planta, la cual fue obtenida mediante criterios de inclusión y exclusión, y se empleó el método de difusión en pozo para la determinación del efecto inhibitorio del extracto sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, los datos obtenidos fueron analizados mediante estadísticos descriptivos e inferenciales para contrastar la hipótesis con un nivel de confianza del 95%.

**Resultados:** Se obtuvo halos de inhibición promedio frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 para el extracto metanólico de Matico a 100 mg/ml de  $15,41 \pm 0,42$ mm; a la concentración de 75 mg/ml el halo promedio fue de  $13,25 \pm 0,39$ mm, a la concentración de 50 mg/ml se obtuvo un halo promedio de  $11,79 \pm 0,40$ mm; para el control negativo el halo fue de  $6,30 \pm 0,52$ mm y para el control positivo fue de 24,62mm, presentado mayor efecto inhibitorio este último en comparación con los extractos de la planta estudiados.

**Conclusión:** Mediante el análisis estadístico inferencial y la escala de Durafourd se logró demostrar el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Palabras clave:** Extracto metanólico, *Piper aduncum L.* , Matico, *Streptococcus mutans*

## ABSTRACT

**Objective:** To demonstrate the inhibitory effect of the methanolic extract of the leaves of *Piper aduncum* L. (Matico) on *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Method:** The method used in the research corresponds to a quantitative, cross-sectional, experimental study, which had *Piper aduncum* L. (Matico) obtained from the district of Pomalca, province of Chiclayo, department of Lambayeque as study population, the extract was obtained by maceration with a sample of 1.5kg of leaves obtained by inclusion and exclusion criteria, and the well diffusion method was used to determine the inhibitory effect of the extract on *Streptococcus mutans* ATCC 25175, the data obtained were analyzed by descriptive and inferential statistics to contrast the hypothesis with a confidence level of 95%.

**Results:** Average inhibition halos against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 were obtained for the methanolic extract of Matico at 100 mg/ml of  $15.41 + 0.42$ mm; at a concentration of 75 mg/ml the average halo was  $13.25 + 0.39$ mm, at a concentration of 50 mg/ml an average halo of  $11.79 + 0.40$ mm was obtained; for the negative control the halo was  $6.30 + 0.52$ mm and for the positive control it was 24.62mm, the latter presenting a greater inhibitory effect compared to the plant extracts studied.

**Conclusion:** Through inferential statistical analysis and the Durafourd scale, it was possible to demonstrate the inhibitory effect of the methanolic extract of the leaves of *Piper aduncum* L. (Matico) on *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Keywords:** *Piper aduncum* L. , Matico, *Streptococcus mutans* , methanolic extract

## I. INTRODUCCIÓN

Muchas bacterias forman parte de la microbiota en nuestro organismo, sin embargo por diversos factores ellas se convierten en bacterias patógenas, ocasionando enfermedades muy graves que están ligadas con la producción de sustancias tóxicas, tal es el caso de *Streptococcus mutans*, considerada una bacteria patógena y resistente, la cual ingresa generalmente por un herida abierta o las vías respiratorias; este microorganismo puede refugiarse tanto en las células epiteliales, células endoteliales e incluso en los macrófagos, desarrollando la infección<sup>1,2</sup>.

La Organización Mundial de la Salud en el año 2018 informó sobre la resistencia a los antimicrobianos: que en países con niveles económicos altos o bajos la resistencia a determinadas infecciones bacterianas se encuentra en la misma proporción, siendo las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* las más comunes en causar resistencia. En Europa la resistencia de *Staphylococcus aureus* a la Amoxicilina fluctúa entre 0.3 a 80% y en el continente americano la resistencia varía de 2.4% a 90%.<sup>3</sup>

*Streptococcus mutans*, es una bacteria que tiene una alta incidencia en enfermedades bucales relacionadas con la mala higiene y caries dental, así mismo, esta bacteria llega a producir otras patologías bacterianas a otras partes del cuerpo, esto se complica más aún cuando genera factores de resistencia similares a *Staphylococcus aureus*<sup>4</sup>.

En el Perú se muestra una realidad similar a todo el mundo, existen reportes de microorganismos altamente resistente a los antibióticos, esta resistencia según parece se debe al uso indiscriminado de medicamentos tanto para uso humano como en animales que sucede en nuestra sociedad, es por ello, que el Ministerio de Salud a través de su organismo regulador en materia de medicamentos “La Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas” viene planteando políticas de control de medicamentos y Farmacovigilancia<sup>5</sup>.

Con respecto al marco teórico, *Piper aduncum* L. (Matico), se presenta como un árbol de 2-8m de altura de hoja perenne, también se puede encontrar como

arbusto, sus hojas son en lámina oblongo-elíptica a lanceolada, miden aproximadamente 12-20 centímetros de largo por 3-9 centímetros de ancho, el tronco tiene alrededor de 7cm de diámetro la superficie superior es escabrosa, su inflorescencia es a menudo bisexual, de hojas arqueadas, brácteas florales redondeadas subtriangulares, de 0,4 a 0,7mm de ancho, ciliadas densamente de color amarillo-blancas. Las hojas del aceite esencial de Matico presentan en su composición asarona y coneol. Contiene safrol, que se viene utilizando con éxito en la fabricación de poderosos insecticidas, fragancias, jabones y productos detergentes. *P. aduncum L.* se caracteriza por presentar amidas, fenilpropanoides, terpenos, chalconas y dihidrochalconas, flavonas y compuestos adicionales que abarcan derivados del ácido benzoico y sustancias cromógenas<sup>6</sup>.

Por otro lado, *Streptococcus mutans* es una bacteria grampositiva que pertenece a la familia Streptococcaceae, se encuentran en forma de cocos formando pares o cadenas, no presenta flagelos, no produce espora, son catalasa negativa y su metabolismo es anaerobio facultativo, son esféricas y miden menos de 2µm de diámetro. Fermenta glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. Se le considera una bacteria cariogénica por lo que está relacionada a la formación de caries dental. Su hábitat natural es la superficie dental, donde sintetiza glucanos y fija compuestos ácidos que desmineralizan a los dientes produciendo las caries<sup>7</sup>.

Entre los antecedentes internacionales del estudio podemos mencionar a Guayas J. et al (2020), quienes evaluaron in vitro la actividad antibacteriana de extractos etanólicos de *U. tomentosa*, *Piper aduncum L.*, *A. absinthium* frente a *E. coli*. En los resultados se observó que el extracto etanólico de *U. tomentosa* presentó una concentración mínima inhibitoria a los 625µL y los extractos de *Piper aduncum L.* y *A. absinthium* no presentaron efecto bactericida, no obstante, se visualizó una disminución leve en el crecimiento bacteriano, por lo que se podría pensar que presenta un efecto bacteriostático. Se concluye que *Piper aduncum L.* presenta un ligero efecto inhibitor en el crecimiento bacteriano<sup>8</sup>

Del mismo modo, Ordoño A. et al (2019), publicaron un artículo con el objetivo de formular un jabón líquido para manos con extracto de *Piper aduncum L.* como componente antibacteriano natural. Los resultados revelaron que la zona de

inhibición del jabón de manos líquido (JML) comercial varía significativamente en comparación con los JML formulados con extracto *P. aduncum L.* . Por tanto, se comprobó que el extracto crudo de *P. aduncum L.* no es eficaz como componente antibacteriano en la formulación de jabón líquido para manos<sup>9</sup>.

Con respecto a los antecedentes nacionales del estudio podemos mencionar a Castillo A. et al (2021), en su tesis “Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Piper aduncum L.* frente a cepas de *Candida albicans*”. el objetivo planteado fue demostrar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Piper aduncum L.* “Matico”, frente a cepas de *Candida albicans*. En los resultados el extracto al 25% formo halos de 12.99mm, al 50% halos de 15.25mm y al 100% formo halo de 19.81mm, lo que indica que el extracto etanólico de *Piper aduncum L.* presenta efecto inhibitorio frente a cepas de *Candida albicans*<sup>10</sup>.

Mendoza M. (2019), en su investigación “Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Piper aduncum L.* “Matico” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina, estudio in vitro”, evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *P. aduncum L.* “Matico” sobre *S. aureus*. El Matico formo halos inhibitorios a partir de la concentración de 75% (13.70mm) y 100% (16.50mm), pero no supero al control positivo (oxacilina), sin embargo, no supera al fármaco Oxacilina<sup>11</sup>.

Ingaroca S. et al (2019), elaboraron un estudio del aceite esencial de *Piper aduncum L.* “Matico” con el objetivo de determinar su composición química, actividad antioxidante y efecto fungistático. Los componentes principales fueron metileugenol, germacreno D, biciclogermacreno,  $\beta$ -cariofileno,  $\delta$ - cadineno y  $\beta$ -ocimeno; su actividad antioxidante fue mínima y el efecto fungistático sobre *C. albicans* también<sup>12</sup>.

En ese sentido se plantea el objetivo general, demostrar efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *in vitro*.

Así mismo, se plantea también la hipótesis general del estudio, el extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) tiene efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

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

- Enfoque Cuantitativo: Presenta enfoque cuantitativo, porque las variables en estudio presentaron datos numéricos a los cuales se les aplicó análisis estadístico para predecir el comportamiento de las variables o su relación.
- Diseño Experimental y Transversal: Es experimental porque estuvo centrada en un tipo de investigación con grupo control donde las variables fueron manipuladas por los investigadores, para observar los fenómenos resultantes de la interacción de las variables y Transversal, porque la recolección de los datos relacionados al fenómeno observado fue realizada en un solo periodo de tiempo.<sup>13,14</sup>.

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

**Población:** La población es el conjunto de plantas que presentan similares características (especie) y comparten propiedades semejantes, en tal sentido se consideró una población total de 4 kilogramos de *Piper aduncum* L. (Matico) las que fueron recolectadas en un terreno agrícola del distrito de Pomalca, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque ubicado en las coordenadas geográficas 6.7679° de latitud Sur y a una longitud Oeste de 79.7718°.

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

**Muestra:** De la población considerada y después de aplicar los criterios de selección se tomaron 1,5 kilogramos de las hojas, con las que se iniciaron el proceso de análisis.

Criterio de inclusión: Las hojas seleccionadas deben presentar características similares en cuanto al peso, color y tamaño.

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

**Muestreo:** Corresponde al tipo no probabilístico por conveniencia<sup>15</sup>.

### II.3. Variables de investigación

**Variable independiente:** Extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico).

- **Definición conceptual:** Producto extraído de la planta que contiene los metabolitos secundarios.
- **Definición operacional:** Maceración en metanol.

**Variable dependiente:** Efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

- **Definición conceptual.** Disminución o muerte bacteriana
- **Definición operacional.** Medida del tamaño del halo de inhibición.

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

#### Técnica:

Observación directa

#### Instrumento:

Ficha de recolección de datos para la determinación del efecto antibacteriano : Se hizo uso de una ficha de recolección de datos donde se consignaron los valores de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml en columnas separadas, además de los grupos control (negativo y positivo), se registraron 15 datos para cada intervención donde se anotaron el tamaño en milímetros de halos formados según la concentración de cada extracto o grupos control.

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

#### II.5.1 Elaboración del extracto

Se seleccionó 1.5 kg de las hojas de *Piper aduncum L.* fueron seleccionadas según los criterios de inclusión y exclusión, luego fueron lavadas con agua destilada y desinfección con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% fueron llevadas a estufa y colocadas a una temperatura de 45°C para su deshidratación completa y secado, luego se agregó metanol hasta obtener una consistencia homogénea, se realizó el mismo procedimiento hasta agotar toda la cantidad de muestra,



luego se llevaron a macerar en un frasco con capacidad de 4 litros y que sea de color oscuro (ámbar) y se dejó en reposo por 10 días entre 20° a 25°C, asimismo, se tuvo que agitar cada 12 horas para homogenizar la muestra y posteriormente se filtró y llevó a estufa para evaporar el metanol.

El extracto obtenido se preparó considerando las concentraciones de 100 mg/ml, 75 mg/ml y 50 mg/ml obteniendo 5 ml como mínimo de cada extracto.

### **II.5.2 Efecto antibacteriano**

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

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

Con el inóculo obtenido de *Streptococcus mutans* se hizo un sembrado en 15 placas Petri con agar Mueller Hinton (medio estándar) y se le realizaron pocitos de 6mm con un sacabocados para poder introducir los 30µL del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) en concentraciones de 100 mg/ml, 75 mg/ml y 50 mg/ml.

Para los grupos del control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y el control negativo (metanol) se trataron como los grupos de la variable independiente, con 15 placas con *Streptococcus mutans* y con dos pocitos donde se aplicaron 30µL de Clorhexidina al 0.12% y 30µL de metanol 96°C.

Todas las placas fueron llevadas a la incubadora por 24 horas hasta 48

horas a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 2$  y después de transcurrido el tiempo se observaron el crecimiento bacteriano y la formación de halos de inhibición alrededor de cada pocito.

La medida de los halos fue tomada con un equipo llamado vernier digital o Pie de rey y su medida fue en milímetros (mm), toda esta información se plasmó en la ficha de datos del estudio microbiológico.

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

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

Los datos recolectados fueron ingresados a una base de datos en Excel para obtener los valores promedio y límites de confianza, así mismo, se exportó esta base al programa estadístico SPSS versión 26 para determinar si cumple con la estadística paramétrica y homogeneidad de varianzas, posteriormente se aplicó la prueba de ANOVA y Tukey para confirmar la hipótesis del estudio con un nivel de confianza del 95%<sup>16</sup>.

## **II.7. Aspectos éticos**

Los procedimientos establecidos en el presente estudio no requieren el uso de animales o personas, pero si se instauraron procedimientos microbiológicos por tal razón se tuvieron en cuenta los principios de bioseguridad y manejo de material biocontaminado para no afectar a otras personas ni el medio ambiente, así mismo, los autores fueron sometidos en el presente trabajo a la evaluación del programa Turnitin para determinar la originalidad del trabajo, así mismo, son los únicos responsables por la veracidad del contenido presentado, asimismo, todos los antecedentes y referencias tomadas para el desarrollo de la investigación fueron correctamente citadas para no usurpar el trabajo realizados por los otros investigadores<sup>17,18</sup>.

### III. RESULTADOS

**Tabla 1.** Efecto inhibitorio “del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. a la concentración de 100mg/ml sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.”

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)								
N°	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo	
				Límite inferior	Límite superior			
Ext. metan. Matico - 100 mg/ml	15	15,41	0,42	0,11	15,17	15,64	14,74	16,14
Control Negativo (Met)	15	6,30	0,52	0,14	6,01	6,59	5,37	7,31

Fuente: Elaboración propia

En la **tabla 1**, se puede apreciar el análisis realizado a los datos del tamaño del halo de inhibición para el grupo correspondiente del extracto metanólico de Matico de 100mg/ml y el control negativo de metanol, realizado mediante el programa SPSS versión 26 para obtener los datos estadísticos como media, desviación estándar, los límites de confianza y valores máximo y mínimo encontrados de los valores promedio de los halos de inhibición obtenidos por extracto metanólico de Matico a 100 mg/ml frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, obteniendo valores promedio de halo de inhibición de  $15,41 \pm 0,42$ mm; por otro lado, el control negativo empleado (metanol) obtuvo halo de inhibición de  $6,30 \pm 0,52$ mm.

**Tabla 2.** Efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. a la concentración de 75mg/ml sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)								
	N°	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Ext. metan. Matico - 75 mg/ml	15	13,25	0,39	0,10	13,03	13,47	12,63	13,88
Control Negativo (Met)	15	6,30	0,52	0,14	6,01	6,59	5,37	7,31

Fuente: Elaboración propia

En la **tabla 2**, se puede apreciar el análisis realizado a los datos del tamaño del halo de inhibición para el grupo correspondiente al extracto metanólico de Matico de 75mg/ml, y el control negativo de metanol, realizado mediante el programa SPSS versión 26 para obtener los datos estadísticos como media, desviación estándar, los límites de confianza y valores máximo y mínimo encontrados de los valores promedio de los halos de inhibición obtenidos por extracto metanólico de Matico a 75 mg/ml frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, obteniendo valores promedio de halo de inhibición de  $13,25 \pm 0,39$ mm; por otro lado, el control negativo empleado (metanol) obtuvo halo de inhibición de  $6,30 \pm 0,52$ mm.

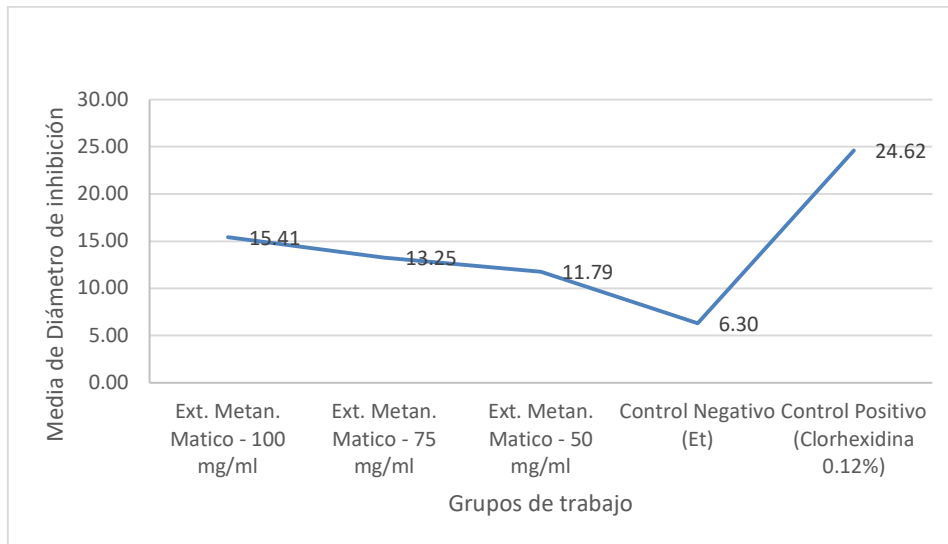
Tabla 3. Efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* a la concentración de 50mg/ml sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)								
N°	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo	
				Límite inferior	Límite superior			
Ext. metan. Matico - 50 mg/ml	15	11,79	0,40	0,10	11,57	12,01	11,15	12,83
Control Negativo (Met)	15	6,30	0,52	0,14	6,01	6,59	5,37	7,31

Fuente: Elaboración propia

En la **tabla 3**, se puede apreciar el análisis realizado a los datos del tamaño del halo de inhibición para el grupo correspondiente al extracto metanólico de Matico de 50mg/ml, y el control negativo de metanol, realizado mediante el programa SPSS versión 26 para obtener los datos estadísticos como media, desviación estándar, los límites de confianza y valores máximo y mínimo encontrados de los valores promedio de los halos de inhibición obtenidos por extracto metanólico de Matico a 50mg/ml frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, obteniendo valores promedio de halo de inhibición de  $11,79 \pm 0,40$ mm; por otro lado, el control negativo empleado (metanol) obtuvo halo de inhibición de  $6,30 \pm 0,52$ mm.

**Figura 1:** Efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. a la concentración de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Fuente: Elaboración propia

En la **figura 1.** permite observar de manera visual los promedios de los halos de inhibición con su respectivo rango de variación con respecto a la media, del mismo modo, se observa el comportamiento comparado extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. a la concentración de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, observándose un efecto inhibitorio superior a mayores concentraciones, así mismo, se observan diferencias significativas entre los halos de inhibición de los grupos control con respecto a los grupos experimentales.

**Determinación del efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 comparado con Clorhexidina al 0.12%.**

**Hipótesis de contrastación**

**H<sub>0</sub>:** El efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) a la concentración de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 no es mayor que Clorhexidina al 0.12%.

**H<sub>1</sub>:** El efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) a la concentración de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es mayor que Clorhexidina al 0.12%.

**Análisis de los datos recolectados**

**Tabla 4. Prueba De Distribución Normal Para Cada Grupo De Tratamientos**

	Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diámetro del Halo de Inhibición (Mm)	Ext. metan. Matico - 100 mg/ml	0,961	15	0,711
	Ext. metan. Matico - 75 mg/ml	0,943	15	0,422
	Ext. metan. Matico - 50 mg/ml	0,878	15	0,244
	Control Negativo (Met)	0,979	15	0,960
	Control Positivo (Clorhexidin. 0.12%)	0,974	15	0,917

**Fuente:** SPSS versión Nro. 26

**Interpretación:**

En la tabla 4, se muestra el análisis realizado las pruebas de Shapiro-Wilk para confirmar la distribución normal de los datos analizados, con un nivel de confianza del 95,00%, se observa que el nivel de significancia calculado en tabla supera el nivel de significancia de 0,05 establecido por el estudio, por lo tanto, se confirma que todos los grupos analizados presentan distribución normal.

**Tabla 5. Análisis de la Varianza (ANOVA)**

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	2684,880	4	671,220	3640,454	0,000
Dentro de grupos	12,906	70	0,184		
Total	2697,786	74			

**Fuente:** SPSS versión Nro. 26

**Interpretación:**

Se observa en la **tabla 5**, la prueba de ANOVA o análisis de la varianza aplicada a los grupos de los datos mediante el programa SPSS versión 26, luego del análisis se observa un p-valor obtenido menor al nivel de significancia del estudio; por lo tanto, la prueba nos confirma que existe diferencia estadísticamente significativa en al menos uno de los grupos de datos.



**Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey**

DIÁMETRO DE INHIBICIÓN						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo (Met)	15	6,30				
Ext. metan. Matico - 50 mg/ml	15		11,79			
Ext. metan. Matico - 75 mg/ml	15			13,25		
Ext. metan. Matico - 100 mg/ml	15				15,41	
Control Positivo (Clorhexidin. 0.12%)	15					
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

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

Fuente: SPSS versión Nro. 26

### Interpretación:

La tabla 6, muestra un análisis complementario a la prueba de ANOVA el cual se realizó mediante la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos, este análisis determinó diferencias estadísticamente significativas entre todos de los grupos de los datos mostrando en la tabla superior según niveles el grado de estas según tamaño de halo de inhibición. Se observa que el control positivo de clorhexidina al 0.12% obtuvo mayor efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, seguido por las concentraciones al 100mg/ml, 75 mg/ml y 50 mg/ml del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) respectivamente y finalmente el control negativo se ubica en el nivel inferior sin inhibición antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

### Conclusión:

Del análisis de los datos se rechaza la Hipótesis alterna y se acepta la hipótesis Nula que indica que el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) a la concentración de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 no es mayor que Clorhexidina al 0.12%.

**Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd**

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control Negativo (Met)	6,30			
Ext. metan. Matico - 50 mg/ml		11,79		
Ext. metan. Matico - 75 mg/ml		13,25		
Ext. metan. Matico - 100 mg/ml			15,41	
Control Positivo (Clorhexidin. 0.12%)				24,62

Fuente: SPSS versión Nro. 26

En la **tabla 7**, se muestra la escala comparativa de Duraffourd mediante la cual se puede determinar la sensibilidad antibacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con respecto a los grupos de trabajo, se observa que esta bacteria es altamente sensible al control positivo (clorhexidina 0.12%), Muy sensible al extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) a la concentración de 100mg/ml, así mismo, es sensible al extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) a la concentración de 75mg/ml y 50mg/ml y presenta sensibilidad nula al control negativo.

## IV. DISCUSIÓN

### IV.1. Discusión de Resultados

*Piper aduncum L.* (Matico) es una planta que tiene muchas referencias científicas por sus propiedades medicinales que pueden ser aprovechados en los diferentes campos de la medicina sobre todo para combatir los microorganismos, por otro lado, *Streptococcus mutans* se presenta como una bacteria con potencial actividad antibacteriana y complicaciones en la salud, en tal sentido, la presente investigación evaluó estas dos variables mediante un estudio experimental in vitro encontrando los resultados que se discuten a continuación.

Con respecto al primer objetivo del estudio sobre el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* a la concentración de 100mg/ml sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se determinó que este extracto presenta efecto inhibitorio mediante la formación de valores promedio de halo de inhibición sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 de  $15,41 \pm 0,42$ mm; por otro lado, el control negativo empleado (metanol) obtuvo halo de inhibición de  $6,30 \pm 0,52$ mm; lo que muestra una diferencia significativa entre estos dos valores y confirma el efecto inhibitorio del extracto metanólico, así mismo, el estudio realizado por **Castillo, et al (2021)**, obtuvo un halo de inhibición para el extracto etanólico de *Piper aduncum L.* al 100% (100mg/ml) frente *Candida albicans* de 19.81mm; por otro lado, **Mendoza (2019)** al exponer del aceite esencial de *Piper aduncum L.* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 al 100% (100mg/ml), obtuvo halos de inhibición de 16.50mm; es evidente el efecto antimicrobiano que presenta el *Piper aduncum L.* tanto en extracto metanólico, etanólico y en su forma de aceite esencial como lo muestran los estudios presentados, así mismo, las diferencias encontradas se relacionan con la forma de extracción de los principios activos y el efecto que estos producen sobre distintos microorganismos.

Con respecto al segundo objetivo con respecto al efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* a la concentración de 75mg/ml sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, también se determinó su efecto inhibitorio sobre esta bacteria mostrando valores promedio de halo de inhibición de  $13,25 \pm 0,39$ mm; por otro lado, **Mendoza (2019)** al exponer del aceite esencial de *Piper aduncum L.* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 al 75% (75mg/ml), obtuvo halos de inhibición de 13.70mm; a pesar de haberse trabajado sobre distintas formas de extracción de los metabolitos, existe halos de inhibición muy similares en ambos microorganismos, lo que indicaría que a estas concentraciones tanto el extracto metanólico como el aceite de esta planta poseería el mismo efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*.

Así mismo, con respecto al tercer objetivo del estudio sobre el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* a la concentración de 50mg/ml sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175; se determinó su efecto inhibitorio sobre esta bacteria mostrando valores promedio de halo de inhibición de  $11,79 \pm 0,40$ mm; por su parte **Guayas, et al (2020)**, en su estudio evaluó el extracto etanólico de *Piper aduncum L.* frente a *Escherichia coli*, encontrando también un efecto inhibitorio sobre esta bacteria a la misma concentración; **Castillo, et al (2021)** por su parte obtuvo halo de inhibición de a la concentración del 50% halos de 15.25mm contra *Candida albicans*, los estudios se evaluaron sobre el extracto etanólico en relación al nuestro que fue obtenido sobre extracto metanólico, encontrado diferentes entre los extractos y el microorganismo empleado, de manera general se puede apreciar que el extracto etanólico de esta planta presenta mayor efecto contra *Candida albicans* comparado con el extracto metanólico a la misma concentración frente a *Streptococcus mutans*.

Los efectos inhibitorios sobre diferentes microorganismos de esta planta están relacionados con la cantidad de metabolitos secundarios

que poseen con potencial actividad antimicrobiana, como lo refiere el estudio de **Ingaroca S. et al (2019)**, quienes analizaron el aceite esencial de *Piper aduncum L.* “Matico” encontrando componentes principales como metileugenol, germacreno D, biciclogermacreno,  $\beta$ -cariofileno,  $\delta$ -cadineno y  $\beta$ -ocimeno; demostrando también efecto fungistático sobre *C. albicans* también<sup>12</sup>.

La aplicación de los principios activos de esta planta en formulaciones no ha **tenido mucho éxito como lo presento el estudio de Ordoyo A. et al (2019)**, quienes publicaron un artículo con el objetivo de formular un jabón líquido para manos con extracto de *Piper aduncum L.* como componente antibacteriano natural. Los resultados revelaron que la zona de inhibición del jabón de manos líquido (JML) comercial varía significativamente en comparación con los JML formulados con extracto *P. aduncum L.* demostrando que el extracto crudo de *P. aduncum L.* no es eficaz como componente antibacteriano; sin embargo, es necesario ampliar los estudios sobre otros tipos de extractos.

Finalmente al comparar el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con Clorhexidina al 0.12%, se evaluó los grupos experimentales y control mediante la aplicación de la prueba de ANOVA y Tukey lo que permitió confirmar con un nivel de significancia del 0,05% la hipótesis alterna que confirma que el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) a la concentración de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 no es mayor que Clorhexidina al 0.12%; evidentemente los extractos obtenidos de la planta no demuestran el mismo poder antibacteriano frente a un medicamento con reconocida actividad frente a este tipo de bacterias, como lo demostró del mismo modo, **Mendoza (2019)**, al comparar el aceite esencial de *Piper aduncum L.* “Matico” frente a Oxacilina contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## IV.2. Conclusiones

- ✓ El extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) a la concentración de 100mg/ml presentó efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con un halo de inhibición de 15,41 ± 0,42mm.
- ✓ El extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) a la concentración de 75mg/ml presentó efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con un halo de inhibición de 13,25 ± 0,39mm.
- ✓ El extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) a la concentración de 50mg/ml presento efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con un halo de inhibición de 11,79 ± 0,40mm.
- ✓ El efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) a la concentración de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es menor que el efecto observado por la Clorhexidina al 0.12% la cual formó un halo de inhibición de 24.62mm.

## IV.3. Recomendaciones

- Comparar el efecto inhibitorio de diferentes tipos de extractos mediante la extracción con otros solventes (cloroformo, acetona, éter, etc) con nuestros resultados para determinar el de mayor eficacia inhibitoria.
- Evaluar el efecto de los extractos obtenidos frente a otras bacterias y hongos para determinar la susceptibilidad de estos microorganismos frente al extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico)
- Identificar los metabolitos específicos que producen el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) mediante análisis de cromatografía con espectrometría de masas u otra técnica analítica que permita su identificación.
- Evaluar el efecto sinérgico o antagonico del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum L.* (Matico) con diferentes antibióticos mediante estudios in vitro que permitan su uso en el tratamiento complementario.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Flores R, Villarroel J, Valenzuela F. Enfrentamiento de las infecciones de piel en el adulto. *Revista Clínica Las Condes*. 2021;32(4):429–41.
2. Liu G. Molecular Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Infection. *National Institute of Health*. 2019;67(3):190–3.
3. Organización Mundial de la Salud. Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo [Internet]. WHO. World Health Organization; 2018 [cited 2019 Sep 2]. Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>
4. Palomer R. L. Caries dental en el niño. Una enfermedad contagiosa. Vol. 77, *Revista Chilena de Pediatría*. 2006. p. 56–60.
5. MINSA. RD\_027-2020-Digemid-Dg-Minsa. DIGEMID. 2020;
6. Fern K. Piper aduncum Tropical Plants [Internet]. Kampong Publications; 2021 [cited 2021 Jul 29]. p. 713. Available from: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Piper+aduncum>
7. Lemos J, Palmer S, Zeng L, Wen Z, Kajfasz J, Freires I. The biology of *Streptococcus mutans*. In: *Microbiology Spectrum*. 2019. p. 435–48.
8. Guayas J, Lazo P. Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de *Uncaria tomentosa*; *Piper aduncum*; *Artemisa absinthium* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 [Internet]. Universidad de Cuenca; 2020. Available from: [http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/34035/1/Trabajo de Titulación.pdf](http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/34035/1/Trabajo_de_Titulación.pdf)
9. Ordoño A, Sepe M. Antibacterial potential of liquid hand soap with *Piper aduncum* leaf extract. *International Journal of Live Sciences* [Internet]. 2019;7(1):1–9. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/332112551\\_Antibacterial\\_potential\\_of\\_liquid\\_hand\\_soap\\_with\\_Piper\\_aduncum\\_leaf\\_extract](https://www.researchgate.net/publication/332112551_Antibacterial_potential_of_liquid_hand_soap_with_Piper_aduncum_leaf_extract)

10. Castillo A, Baldera M. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de Piper aduncum frente a cepas de Candida albicans [Internet]. 2021 [cited 2022 Jun 22]. Available from: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/handle/ROOSEVELT/515>
11. Cahuana Llanos E. Efecto antibacteriano del aceite esencial de piper aduncum “matico” sobre staphylococcus aureus atcc 25923 comparado con oxacilina, estudio invitro. Universidad César Vallejo. 2019;30–3.
12. Ingaroca S, Castro A, Ramos N. Composición química y ensayos de actividad antioxidante y del efecto fungistático sobre Candida albicans del aceite esencial de Piper aduncum L. “Matico” [Internet]. Revista de la Sociedad Quimica del Perú. 2019 [cited 2021 Sep 11]. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2019000200013&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2019000200013&script=sci_arttext)
13. Muñoz C. Como elaborar y asesorar una tesis de investigación. Segunda Ed. Gaona L, Hernández F, editors. Pearson Educacion, S.A.; 2016.
14. Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Available from: [http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia\\_III.pdf](http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf)
15. Hernández C, Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Revista Científica del Instituto Nacional de Salud “Alerta” [Internet]. 2019;2(1):75–9. Available from: <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-de-muestreo/>
16. Díaz V. Metodología de la Investigación Científica y Bioestadística. 2da ed. RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. 564 p.
17. Arias S, Peñaranda F. La investigación éticamente reflexionada. Revista Facultad Nacional de Salud Pública [revista en Internet] 2015 [acceso 27 de setiembre de 2019]; 33(3): 444-451.
18. Comité de ética para la investigación científica. Guía Para La Elaboración De Las Consideraciones Éticas En La Investigación Con Seres Humanos/No Humanos. Facultad de salud UIS. 1989;1989:1–2.



## **ANEXOS**

**ANEXO A: Instrumento de recolección de datos**

<b>EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE Piper aduncum L. (MATICO) SOBRE Streptococcus mutans ATCC 25175, IN VITRO</b>					
<b>Número de placas</b>	<b>GRUPOS EXPERIMENTALES</b>			<b>GRUPOS CONTROL</b>	
	100 mg/ml	75 mg/ml	50 mg/ml	Control Negativo (metanol)	Control positivo (Clorhexidina 0.12%)
Placa N°01	16,01	12,88	11,46	6,40	24,15
Placa N°02	15,88	13,17	11,45	7,31	25,05
Placa N°03	16,14	13,82	11,79	6,45	24,75
Placa N°04	15,34	12,75	12,83	5,86	25,21
Placa N°05	15,68	13,88	11,67	6,65	23,89
Placa N°06	14,93	13,11	11,85	6,98	24,17
Placa N°07	14,94	13,19	11,88	5,75	24,36
Placa N°08	15,82	13,88	11,85	6,06	24,52
Placa N°09	14,74	12,98	12,44	6,76	24,93
Placa N°10	15,17	13,37	11,15	6,67	24,62
Placa N°11	15,18	13,40	11,91	6,48	25,23
Placa N°12	15,31	13,06	11,63	6,02	24,74
Placa N°13	15,45	13,54	11,59	5,81	24,47
Placa N°14	15,38	12,63	11,64	5,37	24,41
Placa N°15	15,13	13,13	11,73	5,98	24,75

## ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Presentará efecto inhibitorio el extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, <i>in vitro</i> ?	Demostrar efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, <i>in vitro</i>	el extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) tiene efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿El extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) a la concentración de 100mg/ml tendrá efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Determinar el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. a la concentración de 100mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	El extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) a la concentración de 100mg/ml tiene efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.
¿El extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) a la concentración de 75mg/ml tendrá efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Determinar el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. a la concentración de 75mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	El extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) a la concentración de 75mg/ml tiene efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.
¿El extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) a la concentración de 50mg/ml tendrá efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Determinar el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. a la concentración de 50mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	El extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) a la concentración de 50mg/ml tiene efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.
¿Presentará mayor efecto inhibitorio el extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) a la concentración de 100mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i>	Comparar el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 con Clorhexidina al 0.12%.	El efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico) a la concentración de 100mg/ml, 75mg/ml y 50mg/ml frente a <i>Sthaphylococcus aureus</i>

ATCC 25175 comparado con Clorhexidina al 0,12%?		ATCC 25923 es mayor que Clorhexidina al 0.12%.
---	--	--

### ANEXO C: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
Extracto metanólico de las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (Matico)	Producto extraído de la planta que contiene los metabolitos secundarios.	Maceración en metanol.	Concentración	mg/ml	Ordinal	3	100 75 50
Efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Disminución o muerte bacteriana	Medida del tamaño del halo de inhibición	Halo de inhibición	Diámetro	Ordinal	4	≤ 8mm 8mm-14mm > 14 mm-20mm > 20mm

## ANEXO D: Certificado taxonómico de la especie vegetal

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 "MATICO" proporcionada por los Bachilleres, GARCÍA SANDOVAL, DEYSI MARILÚ y LLANOS ESCOBAR, ANA ROSA, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Piper aduncum* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino:           Plantae  
División:       Magnoliophyta  
Clase:           Magnoliopsida  
Orden:          Piperales  
Familia:        Piperaceae  
Genero:         *Piper*  
Especie:        *Piper aduncum* L.

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

Lima, 17 julio del 2022

  
Bigo. Hamilton Beltrán  
*Hamilton Beltrán Santiago*  
Biólogo - Botánico  
C 000 2719

## ANEXO E: Certificado de calidad e la especie microbiológica



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release


<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Streptococcus mutans <b>Catalog Number:</b> 0266 <b>Lot Number:</b> 266-26** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25175™* <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2022/9/30 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Christine Condon <b>Release Date:</b> 2020/10/24
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the S3AP other is small, circular and translucent. <b>Microscopic Features:</b> Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and Gram Stain (1) predominately in chains	<b>Medium:</b>  <b>Method:</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)  See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p><small>*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="316 1144 495 1270">   <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</small> </div> <div data-bbox="479 1270 1339 1312"> <small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="316 1354 495 1480">   <small>TESTING CERT #2655.01</small> </div> <div data-bbox="544 1459 885 1480"> <small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small> </div> </div>	



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Streptococcus mutans <b>Catalog Number:</b> 0266 <b>Lot Number:</b> 266-28** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25175™** <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2022/9/30 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Christine Condon <b>Release Date:</b> 2020/10/24
--	--

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the S3AP other is small, circular and translucent. <b>Microscopic Features:</b> Small gram positive coccid to ovoid cells occurring singly, in pairs and Gram Stain (1) predominately in chains	<b>Medium:</b>  <b>Method:</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative

<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
---	--

\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



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

## ANEXO F: Evidencias fotográficas

### Figura 2. Recolección de la especie vegetal





**Figura 3. Filtración del extracto metanólico**



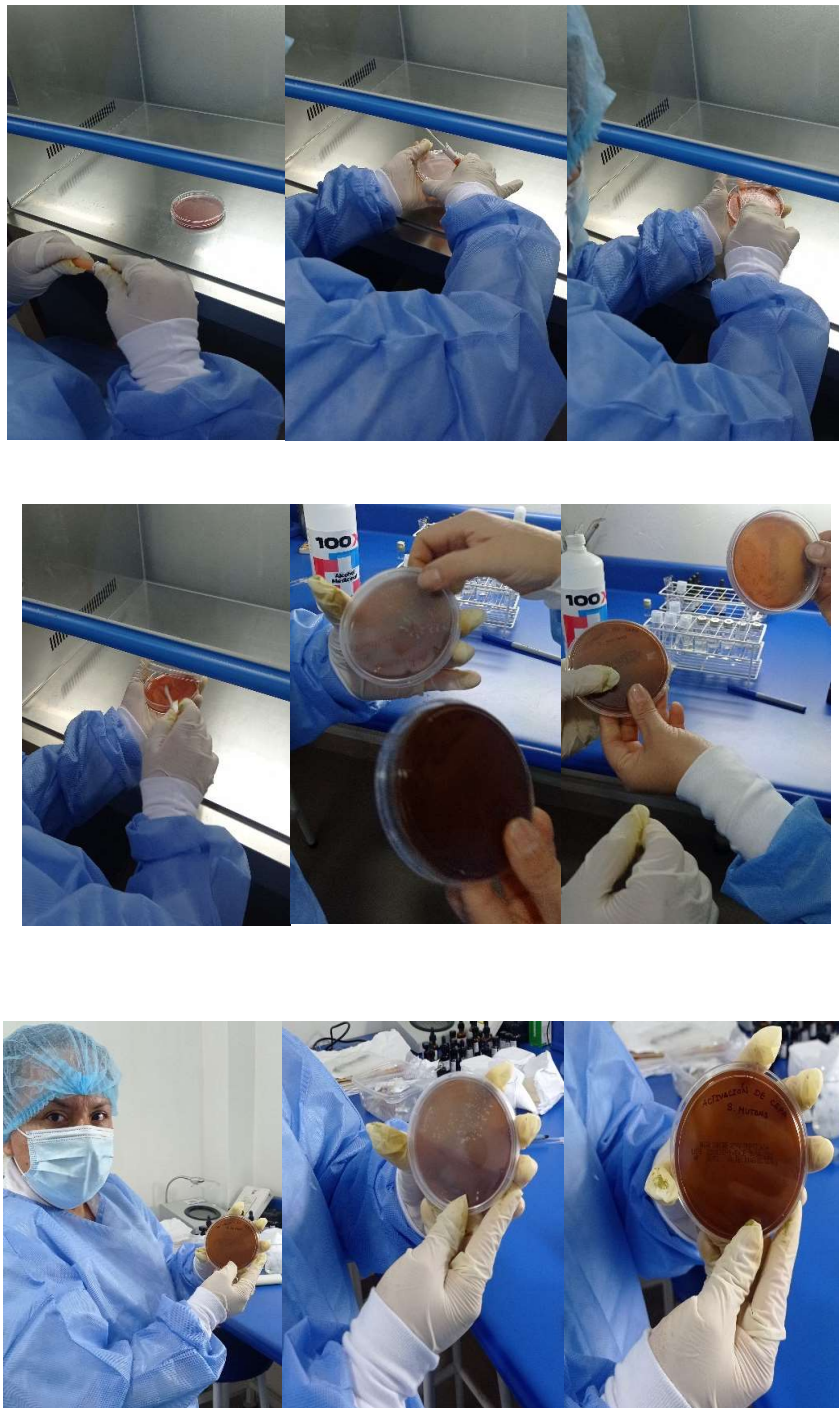
**Figura 4. Obtención del extracto por evaporación del filtrado**



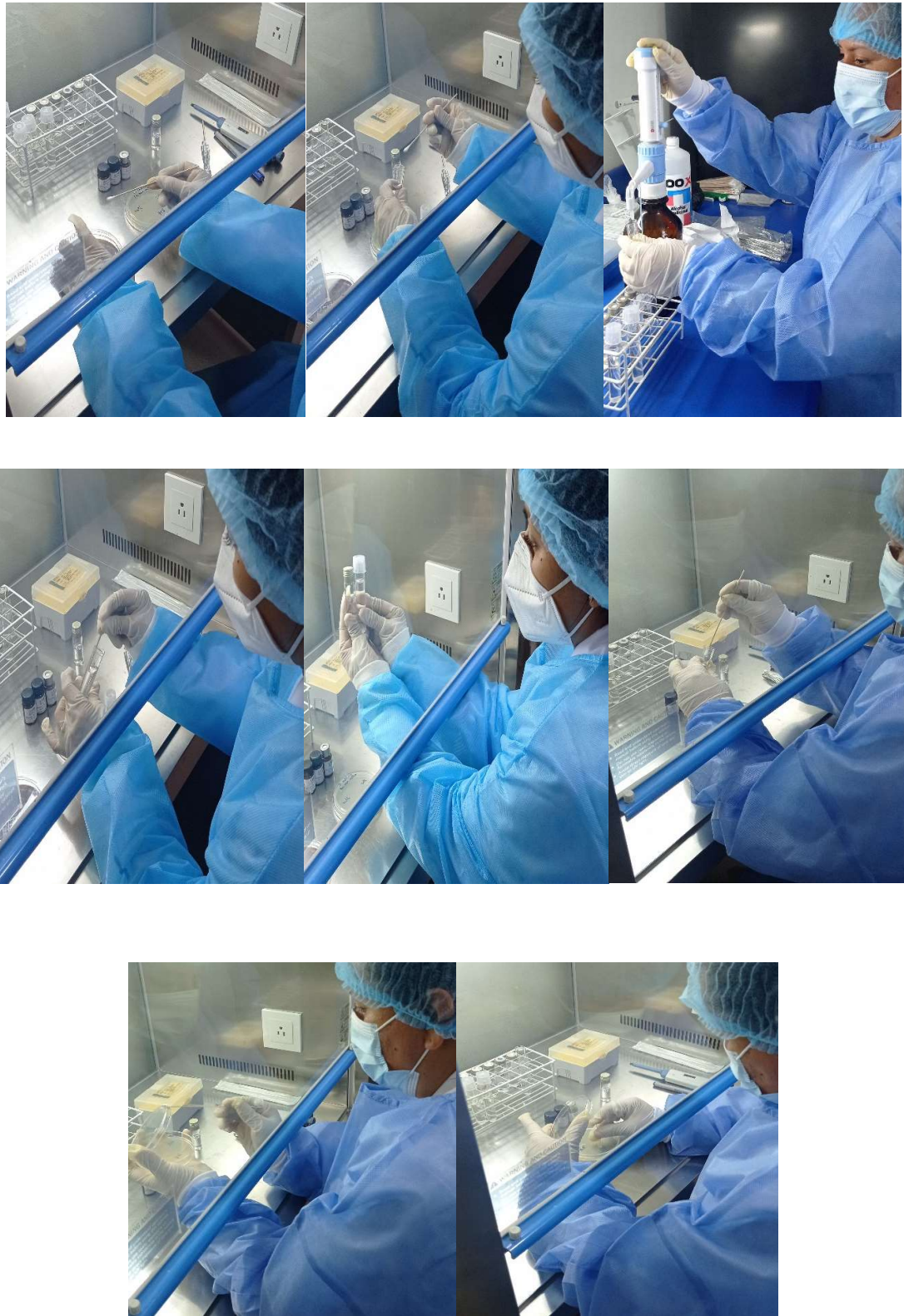
**Figura 5. Obtención de las concentraciones de trabajo para los grupos experimentales**



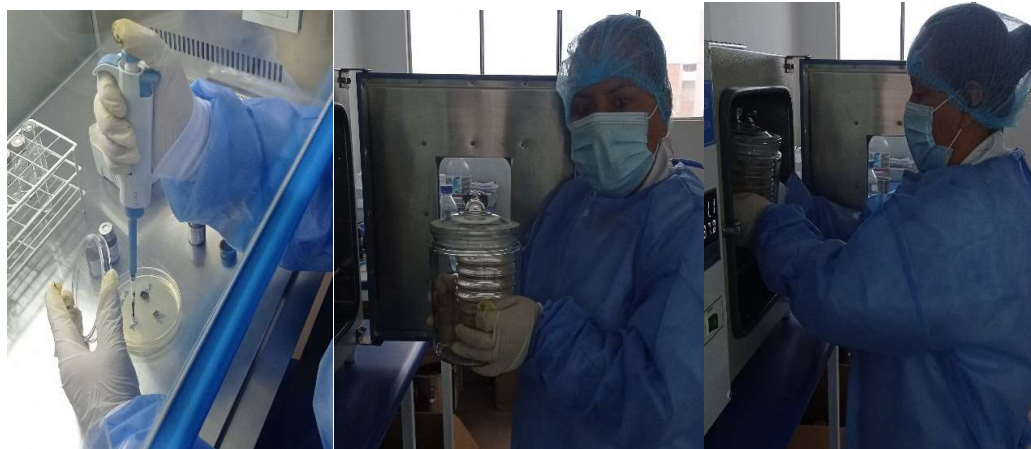
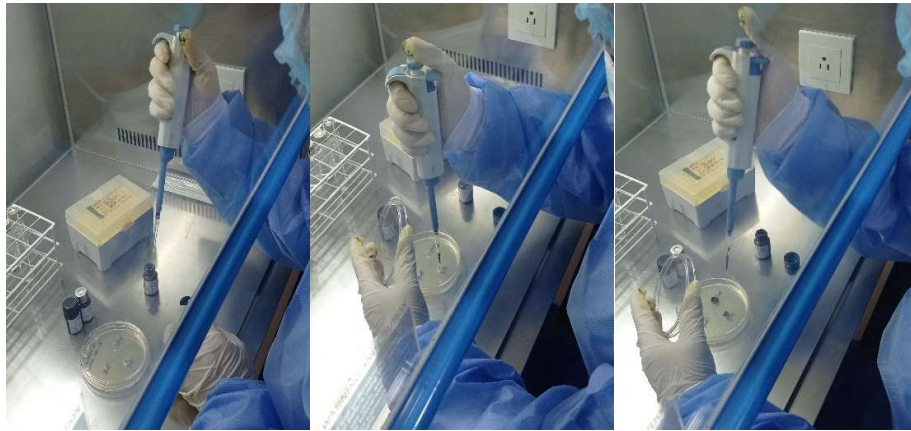
**Figura 6. Activación de la cepa de Streptococcus mutans**



**Figura 7. Preparación del inóculo de bacteriano y sembrado en placa**



**Figura: 8. Aplicación de los extractos metanólicos y sembrado en placa**





Lima, 08 de setiembre del 2022

**EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD MARIA AUXILIADORA**

Visto: El informe de conformidad N°274-UDI-FYB-UMA/2022 Mg. Gerson Córdova Serrano del Proyecto de Tesis presentado por los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica **Deysi Marilú García Sandoval y Ana Rosa Llanos Escobar**.

**CONSIDERANDO:**

Que, mediante el expediente presentado **Deysi Marilú García Sandoval y Ana Rosa Llanos Escobar**, egresado de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica solicita la aprobación del Proyecto de Tesis "EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE Piper aduncum L. (MATICO) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, IN VITRO".

Que, el mencionado documento cuenta con la aprobación del **Mg. Gerson Córdova Serrano**, quien ha revisado el Proyecto de Tesis realizando las observaciones, correcciones y aprobación correspondiente, emiten el Dictamen favorable y su inscripción correspondiente;

Que, en tal sentido se inscribe el presente Proyecto de Tesis al libro de Inscripción de Proyecto de Tesis en la Oficina de Grados y Títulos;

Que, con tal motivo es menester dictar la resolución correspondiente;

Estando el Dictamen de la Comisión Revisora del Proyecto de Tesis en concordancia con las disposiciones reglamentarias vigentes, y en uso de las atribuciones a este Decanato, por la Ley Universitaria 30220, y el Estatuto de la Universidad;

**RESUELVE:**

**PRIMERO. - APROBAR** el Proyecto de Tesis: "EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE Piper aduncum L. (MATICO) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, IN VITRO" presentado por los Bachilleres: **Deysi Marilú García Sandoval y Ana Rosa Llanos Escobar**, de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica.

**SEGUNDO. - DEJAR ESTABLECIDO** que los bachilleres están en condiciones de continuar con el trámite respectivo para optar el Título Profesional, debiendo sujetarse a las disposiciones contenidas en el Reglamento de Grados y títulos, teniendo en cuenta los plazos aprobados.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE



Dr. Jhonnell Samaniego Joaquin  
Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud  
Universidad María Auxiliadora