

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Lantana camara* (hierba de la maestranza) SOBRE *Staphylococcus aureus*^{1,2}

ANTIBACTERIAL EFFECT ON VITRO OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF LEAVES OF Lantana camara (master herb) ON Staphylococcus aureus

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza), sobre *Staphylococcus aureus*. El extracto etanólico se obtuvo por el método de percolación, elaborándose soluciones del extracto en concentraciones del 25%, 50% y 75%, incluyendo el grupo estándar y grupo blanco. La evaluación de la sensibilidad fue por el método de difusión de disco Kirby – Bauer. Se obtuvo como resultado los promedios de halos de inhibición en la concentración al 25% (9.55 mm), en la concentración al 50% (11.40 mm), en la concentración al 75% (14.0 mm), en el grupo blanco (6,00 mm) y grupo estándar (31.20 mm), diferenciándose entre ellos significativamente según la prueba ANOVA ($p < 0.05$). Según la prueba T-Student muestra diferencia significativa entre los grupos de experimentación con ciprofloxacino. Se concluye que la concentración de mayor efecto antibacteriano fue al 75 %, Sin embargo este efecto no fue superior al grupo estándar ciprofloxacino.

Palabras clave: antibacteriano, extracto etanólico, *Lantana camara*, *Staphylococcus aureus*.

-
1. Madeleine Clementina Requelme Bautista. Estudiante de pregrado de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica ULADECH Católica. eabaarg@hotmail.com
 2. Mgr. César Alfredo Leal Vera. Asesor y docente de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica ULADECH Católica. clealv@uladech.edu.pe

ABSTRACT

The present research work was carried out with the objective of demonstrating the antibacterial effect in vitro of the ethanolic extract of *Lantana camara* leaves (herb of the Maestranza), on *Staphylococcus aureus*. The ethanolic extract was obtained by the percolation method, making solutions of the extract in concentrations of 25%, 50% and 75%, including the standard group and the white group. Sensitivity evaluation was by the Kirby-Bauer disk diffusion method. The averages of inhibition halos were obtained as a result in the 25% concentration (9.55 mm), in the 50% concentration (11.40 mm), in the 75% concentration (14.0 mm), in the white group (6, 00 mm) and standard group (31.20 mm), differing significantly between them according to the ANOVA test ($p < 0.05$). According to the T-Student test, it shows a significant difference between the experimental groups with ciprofloxacin. It is concluded that the concentration with the highest antibacterial effect was 75%. However, this effect was not superior to the standard ciprofloxacin group.

Key words: antibacterial, ethanolic extract, *Lantana camara*, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

Las plantas cumplen una función importante en la población humana, son utilizadas desde la antigüedad como consumo y uso curativo contra los padecimientos de enfermedades. Nuestros antepasados buscaban la importancia de conocer las propiedades alimenticias, curativas y tóxicas de las plantas. Actualmente dichas plantas siguen siendo utilizadas como medicina alternativa y como coadyuvante a los tratamientos farmacológicos, con el propósito de reintegrar el bienestar a los enfermos, debido a la variedad de compuestos bioactivos ^(1,2).

Una planta muy poca estudiada es *Lantana camara* L. (familia Verbanaceae), conocida como hierba de la maestranza, originaria de América tropical. Es un arbusto muy ramificado, perenne, fuertemente oloroso, crece hasta dos metros de altura, con tallos largos con espinas curvas, hojas opuestas, ovaladas. Sus hojas se utilizan como medicina natural para aliviar diarrea, traumatismo, vómitos, cólicos estomacales, amebiasis, gripe, bronquitis, tos y dolor de muela, su decocción con otras mezclas de plantas se utiliza para tratar problemas ginecológicos. *Lantana c.* contiene metabolitos secundarios como glucósidos ácidos, alcaloides, saponinas, flavonoides y triterpenos; los cuales han demostrado una amplia variedad de actividades biológicas como antibacterianos, fungicidas, inhibidores de la proteína, antinematodos ^(3,4,5).

Las enfermedades infecciosas continúan siendo un problema creciente de salud pública que se producen por múltiples microorganismos en este caso *Staphylococcus aureus*, es la especie más patógena y virulenta para la humanidad. Es de importancia clínica y epidemiológica debido a que condicionan altas tasas de morbilidad y mortalidad por su alta capacidad patogénica, asociada a una amplia capacidad de producción de enzimas y toxinas, el cual causa una gran variedad de infecciones como abscesos en tejidos blandos, forunculosis, infecciones severas como neumonía, bursitis, endocarditis, septicemias, meningitis, El incremento de infecciones ha generado el uso incontrolable de fármacos antibacterianos, el cual ha generado graves consecuencias como la resistencia bacteriana a los antibióticos, debido a la evolución, origen y multiplicación de cepas que cada vez son más difícil de tratar ^(6,7).

Ante esta problemática nos formulamos la siguiente pregunta ¿Presenta efecto antibacteriano in vitro el extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza), sobre *Staphylococcus aureus*?

El objetivo general de esta investigación es demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza) sobre *Staphylococcus aureus*.

Los objetivos específicos son: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* al 25%, 50%, 75% sobre *Staphylococcus aureus*.

Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza) de los grupos de experimentación con ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus*.

MATERIAL Y METODOS

La presente investigación es un estudio experimental in vitro aplicado a nivel cuantitativo y corte transversal. El estudio estuvo conformado por: grupo control blanco (discos de sensibilidad con DMSO), grupo estándar (discos de sensibilidad con ciprofloxacino), grupo experimental 1 (discos con extracto etanólico de *Lantana camara* al 25%), grupo experimental 2 (discos con extracto etanólico de *Lantana camara* al 50%), grupo experimental 3 (discos con extracto etanólico de *Lantana camara* al 75%). Los cinco grupos estuvieron conformados por 5 placas Petri con medio de cultivo Mueller Hinton, utilizando el método de Difusión de Discos (Kirby- Bauer) para el sembrado de *Staphylococcus aureus*, el cual se utilizó como patrón el tubo de 0.5 de la turbidez de Mc Farland, para medir la cantidad de bacterias. Luego se sumergieron los discos de sensibilidad por una hora en cada extracto de los grupos a trabajar, posteriormente se colocaron cuatro discos según los grupos formados por placa, se llevó a la incubadora a 37 °C por 24 horas, pasado este tiempo se realizó la lectura de los halos de inhibición utilizando una regla milimetrada.

Población y muestra

La población y muestra estuvo conformado por hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza), la recolección de la planta se realizó en el mes de septiembre del 2019, del caserío Molino Cajanleque, Provincia de Ascope, Distrito de La Libertad. En los criterios de inclusión se utilizó hojas frescas en buen estado intactos. El material biológico está constituido por la bacteria *Staphylococcus aureus*

Siembra de la muestra

Se utilizó un hisopo estéril, luego se sumergió en la solución preparada para tomar cultivos de *Staphylococcus aureus*, haciéndolo girar por las paredes del mismo para distribuir los microorganismos adecuadamente. La siembra se hizo sobre la superficie del agar Mueller Hinton, girando la placa Petri en 3 direcciones para un sembrado uniforme. Luego se dejó la placa tapada por 5 minutos para que la superficie del medio se seque. Después del sembrado de *Staphylococcus aureus*, se colocó 4 discos embebidos con la muestra del extracto de *Lantana camara* y DMSO en cada placa petri correspondiente de acuerdo a los grupos formados, midiendo la distancia entre discos evitando que los halos queden sobrepuestos haciendo presión suavemente para que los discos se adhieran al medio, luego se incubaron las placas con el sembrado, a una temperatura de 37^a C por 24 horas, transcurrido este tiempo se realizó la lectura de los halos de inhibición haciendo uso del vernier; y se procedió a recolectar los datos en una tabla los cuales posteriormente se procesó estadísticamente aplicando las pruebas de ANOVA y T-STUDENT.

Técnica para la preparación del extracto

Se seleccionaron las hojas frescas, se lavaron con agua destilada y se secó a estufa 40° C por 24 horas, luego la muestra seca se colocó en el equipo de percolación, agregando cantidad suficiente de solvente etanol de 70 GL., dejando macerar por 48 horas, luego se abre la llave dejando pasar el solvente a una velocidad de 20 gotas por minuto, agregando más solvente para restablecer el volumen de salida. Se recolecto unos 75 ml de extracto fluido y se guardó en un frasco ámbar y se siguió percolando hasta agotar la droga, la segunda recolección se llevó a rotavapor hasta obtener unos 25 ml de extracto que incorporado con el primer volumen guardado se completó los 100 ml de extracto fluido. Mediante el método de extracto seco se determinó los gramos siendo 16.5 g. de extracto seco de *Lantana camara*, a partir de la concentración inicial se realizó las diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75%.

RESULTADOS

Tabla 1: Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza) a la concentración del 25%, 50% y 75% sobre *Staphylococcus aureus*.

GRUPOS	Halos de Inhibición (en mm.) $X \pm DS$	Significancia P
Blanco (DMSO)	6.0±0.0	
Estándar (Ciprofloxacino)	31.20 ± 1.67	0.000*
E.E <i>Lantana camara</i> al 25%	9.55 ± 0.60	
E.E <i>Lantana camara</i> al 50%	11.40 ± 0.60	
E.E <i>Lantana camara</i> al 75%	14.0 ± 0.73	

*ANOVA (P<0.05).

Tabla 2: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza) de los grupos de experimentación con ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus*.

Grupos	Tamaño de los halos de inhibición en mm. de los 2 grupos comparados $X \pm DS$		Significancia (Valor P)
Estándar (Ciprofloxacino) vs E.E <i>Lantana camara</i> al 25%	31.20 ± 1.67	9.55 ± 0.60	0.000*
Estándar (Ciprofloxacino) vs E.E <i>Lantana camara</i> al 50%	31.20 ± 1.67	11.40 ± 0.60	0.000*
Estándar (Ciprofloxacino) vs E.E <i>Lantana camara</i> al 75%	31.20 ± 1.67	14.0 ± 0.73	0.000*
E.E <i>Lantana camara</i> al 25% vs E.E <i>Lantana camara</i> al 50%	9.55 ± 0.60	11.40 ± 0.60	0.000*
E.E <i>Lantana camara</i> al 25% vs E.E <i>Lantana camara</i> al 75%	9.55 ± 0.60	14.0 ± 0.73	0.000*
E.E <i>Lantana camara</i> al 50% vs E.E <i>Lantana camara</i> al 75%	11.40 ± 0.60	14.0 ± 0.73	0.000*

Leyenda:
Prueba T para comparación de medias (*p<0.05)
X=promedio
D.S.=desviación estándar
E.E=extracto etanólico

DISCUSIÓN

En la Tabla 01 se muestran los promedios y desviación estándar de cada grupo de estudio, además se muestra la significancia entre grupos utilizando la prueba estadística ANOVA con un valor $P=0.000$ (es decir menor a 0.05) demostrando que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio en el cual se confirma la hipótesis alternativa de esta investigación.

En el grupo blanco donde se utilizó el solvente DMSO (Dimetilsulfóxido 10%) el valor es de 6.0 ± 0.0 mm que corresponde al diámetro del disco, es decir no se produjo inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, por ninguno de los materiales utilizados en la investigación (Agar, discos y disolvente); este grupo sirvió como control de calidad microbiológico del agar, de los materiales y del solvente de dilución.

En el grupo estándar ciprofloxacino (5 $\mu\text{g}/\text{disco}$) se observa un diámetro de inhibición de 31.20 ± 1.67 mm. este valor se encuentra dentro de lo esperado según el reporte del Instituto Nacional de Salud que señala un valor mayor de 21mm. frente a *S. aureus* ⁽⁸⁾.

Con respecto a los grupos experimentales al 25%, 50%, 75%, del extracto etanólico de *Lantana camara* muestra actividad antibacteriana sobre *S. aureus* que resulta similar al estudio realizado por Ayub et al, (Pakistan,2017) que al comparar diferentes extractos metanólicos reporta halos de inhibición entre 7mm-12mm para una concentración de (500 $\mu\text{g}/\text{disco}$ de extracto seco de *L. camara*) estos valores son similares en esta investigación al E. E. *Lantana camara* al 25% con un valor promedio de 9.55 ± 0.60 mm y al E. E. *Lantana camara* al 50% con un valor promedio de 11.40 ± 0.60 mm, sin embargo se observa que el E. E. *Lantana camara* al 75% con un valor promedio de 14.0 ± 0.73 mm obtuvo mayores halos de inhibición que los reportados en el estudio de Ayub. Este efecto podría explicarse con lo reportado por Girish et al, (2017) y Sharma & Kumar (2009), donde refieren que la presencia de flavonoides, ácido lantanólico, fenoles, antocianinas y proantocianidinas en las hojas de *L. camara* podrían ser responsables de las propiedades antibacterianas de *Lantana camara* ^(9 - 11).

Los estudios de Khan et al, (Arabia Saudita, 2015) al caracterizar los componentes volátiles de hojas y flores de *Lantana camara* encontraron 168 componentes de los cuáles

36 fueron específicos de las hojas y 98 son comunes para hojas y flores. Dentro de los compuestos particulares de las hojas de *Lantana camara* se identificó en mayor cantidad a los sesquiterpenos como cis-3-hexen-1-ol (11.3%), 1-octen-3-ol (8.7%), spatulenol (8.6%), oxido de cariofileno (7.5%) y 1-hexanol (5.8%), esto se corrobora con lo reportado por Swagatika y et al., (2017-India) que describe una alta concentración de sesquiterpenos en las muestras procedentes de *Lantana camara* ^(12,13).

Los compuestos terpenoides (sesquiterpenos) presentes en *Lantana camara* podrían explicar el efecto antibacteriano mostrado ya que los compuestos terpenoides aumentan la fluidez y la permeabilidad de la pared celular del microorganismo cambiando la topología de proteínas de membranas y alteraciones en la cadena respiratoria, según lo propuesto por Paduch et al (Polonia, 2007) la actividad antibacteriana contra *S. aureus* depende en las longitudes de las cadenas alifáticas de los alcoholes terpénicos y la presencia de dobles enlaces ⁽¹⁴⁾.

En la Tabla 02 donde se utilizó la prueba estadística T-Student se observan las comparaciones de los promedios y la respectiva significancia donde los valores para todos los grupos muestran una significancia $P < 0.05$, es decir en todas las comparaciones realizadas existen diferencias estadísticamente significativas.

En las comparaciones del estándar Ciprofloxacino con los extractos etanólicos de *Lantana camara* al 25%, 50% y 75% en todos los casos el fármaco mostró un efecto significativamente superior, debido a que el fármaco se encuentra en forma pura en los sensidiscos mientras que en los extractos utilizado está constituida por una mezcla de diferentes componentes, con diferente volatilidad lo que haría variar la respuesta frente a *S. aureus*. esto resalta la necesidad de obtener compuestos más purificados y que permitan diferenciar los efectos de diferentes compuestos. Entre estos componentes se encuentra el ácido triterpeno 22 β -acetoxilantico y los triterpenos, ácido láctico, ácido 22 β -dimetilacriloloxilantanólico, ácido 22 β -angeloloxilantanólico y ácido lantanólico. El ácido 22 β -acetoxilantico mostró actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* pero la cantidad presente de estos terpenoides es variable dependiendo de la composición de metabolitos secundarios en las plantas de la misma especie, también al lugar de origen de la planta ya que su composición química se verá influenciada por factores ambientales,

como también dependerá de las técnicas de extracción de los extractos ⁽¹⁵⁾.

El extracto de *Lantana camara* al 75% muestra un halo de inhibición mayor que las otras dos concentraciones (25% y 50%), estos valores se deberían a que la respuesta ante bacterias ejercida por los terpenoides presentes en el extracto de las hojas de *Lantana camara* dependerán de la cantidad de dichas moléculas, es decir a mayor concentración del extracto mayor efecto (Respuesta dosisdependiente) ⁽¹⁶⁾.

Muharram et al, (2016) refiere que los componentes bioactivos presentes en las hojas de *Lantana camara* como terpenos, monoterpenos, antocianinas, proantocianidinas, flavonoides y ácido lantanólico pueden inhibir el crecimiento de bacterias de varias maneras, cambiando la fluidez y la permeabilidad de las estructuras de la membrana destruyendo la pared celular, modificando las moléculas de proteína y fijándose en las subunidades alfa de la ADN girasa evitando que se sobreenrolle el ADN bacteriano y así inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos, por lo tanto impide la replicación del ADN, evitando la multiplicación de *Staphylococcus aureus* ^(10,14,17).

CONCLUSION

El extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza) a la concentración del 75% presenta efecto antibacteriano sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

La concentración de mayor efecto antibacteriano del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza) fue al 75 %, Sin embargo, este efecto antibacteriano no fue superior al grupo estándar ciprofloxacino.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Giraldo S, Bernal M, Morales A, Pardo A, Gamba L. Descripción del uso tradicional de plantas medicinales en mercados populares de Bogotá, D.C. NOVA: Publicación Científica En Ciencias Biomédicas [serial on the Internet]. (2015, Jan), [cited July 8, 2018]; 13(23): 73-80. Available from: <https://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=5&sid=1dd51c1a-d7d0-4dfa-bf21a0d3bba055f6%40sessionmgr103>

2. Mendez X. Actividad antibacteriana y antifúngica de *Lantana camara*. Tesis para obtener el título de bióloga. Mexico: Universidad Nacional Autonoma de México, Facultad de estudios superiores Iztacala carrera de biología; 2011.
3. Venegas C. Efecto del aceite esencial de *lantana cámara L.* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis para optar el título profesional de biólogo microbiológico]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, facultad de ciencias biológicas; 2015.
4. Medeiros B; Rocha M, Lima Sousa; Cito A; Silva D; Lopes J; Moura J; Saffi J; Mobin M; Da Costa J. Chemical constituents and evaluation of cytotoxic and antifungal activity of *Lantana cámara* essential oils. *Rev. Bras. Farmacogn.* [Internet]. 2012; [cited 2018 July 09]; 22(6): 1259-1267. URL disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102695X2012000600008
5. Naz R, Bano A. Fitoquímico, antioxidantes y potencial antimicrobiano de *Lantana camara* en diferentes solventes. *Asia Pac J Trop Dis.* [Internet]. 2013; [citado el 19 junio del 2019]. 3 (6): 480–486. Disponible en: doi: 10.1016 / S2222-1808 (13) 60104-8.
6. Zendejas S; Avalos H; Soto M. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomedica.*[internet]. 2014; [citado 30 Nov 2018]. 25 (3): 129-143. Disponible en: <https://search.Ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=lth&AN=100189971&lang=es&site=ehost-live>
7. Cervantes G., García R., Paz M. "Staphylococcus aureus asociado a la comunidad (CA-MRSA)." *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio.* 2015. [citado 26 octubre 2019]; 62(2): 100-111. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=58173>
8. Sacsquispe C, Velásquez P. "Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión." Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. (2002). [citado Abril 2020] Disponible en: <https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manualsensibilidad.pdf>

9. Ayub A; Tauseef S; Zehra S. Antimicrobial Activity of *Lantana camara* Linn. FUUAST Journal of Biology. [Internet]. 2017; [citado 28 abril del 2018]. 7(1): 127-130. Disponible en: <http://fuuastjb.org/index.php/fuuastjb/article/view/60/58>
10. Girish K. Actividades antimicrobianas de *Lantana camara* linn. Asia J Pharm Clin Res [Internet], 2017. [citado junio 2019]; 10 (3): 57. Disponible en: <https://innovareacademic.in/journals/index.php/ajpcr/article/view/16378>
11. SHARMA, B.; KUMAR, P. Bioefficacy of *Lantana camara* l. against some human pathogens. Indian. [Internet]. Rev. J Pharm Sci. [citado 2018 Junio]; 71(5):589-593. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2866360/>
12. Swagatika P., Smaranika P. Detección fitoquímica de componentes presente en el aceite esencial floral de una variedad indígena de *Lantana camara*, Linn (Verbenaceae), [internet]. 2017; [citado junio 2018]; 9 (4): 203 - 209. Disponible en: <http://rjpponline.org/HTMLPaper.aspx?Journal=Research%20Journal%20of%20Pharmacognosy%20and%20Phytochemistry;PID=2017-9-4-2>
13. Khan M; Adeem M; Hamad Z. Alkathlan. Caracterización de hojas y flores componentes volátiles de *Lantana camara* que crecen en la región central de Arabia Saudita. Rev. Journal of Chemistry. [Internet]. 2016 [citado Junio 2018]; 9 (6) 764- 774. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535215003172>
14. Paduch, R., Kandefér M., Trytek M., Fiedurek J. Terpenos: sustancias útiles en la salud humana. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis. 2007, [Internet]. vol. 55(5): 315. [citado Abril 2020]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00005-007-0039-1>
15. Barre T., Bowden F., Coll, C., De Jesus, J., Victoria, E., Janairo, G, y et al. A bioactive triterpene from *Lantana camara*. Rev. Phytochemistry. [Internet]. 1997. 45(2): 321-324. [citado Abril 2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942296008059>

16. Patil S, Kumbhar T. "Antioxidant, antibacterial and cytotoxic potential of silver nanoparticles synthesized using terpenes rich extract of *Lantana camara* L. leaves." *Biochemistry and biophysics reports*. [Internet]. 2017; [citado Abril 2020]. (10): 76-81. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5637243/>

17. Muharram S, Nurrahmania, I, Pince S., Maryono M. Antibacterial Compounds Characterization in Chloroform Extract Leaves of Tahiyam Plant (*Lantana Camara* Liin.). [Internet]. 2016, [citado Junio 2018]; 130 - 135. Disponible en : <https://ojs.unm.ac.id/icmstea/article/view/2638>