



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

TESIS

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *CYBISTAX*
ANTISYPHILITICA (MART.) MART “LLANGUA” FRENTE A
*ESCHERICHIA COLI***

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Presentado por:

Bach. Mamani Atamari, Elizabeth

Bach. Flores Vera, Ali Anibal

ASESOR:

Dr. Q.F. Tapia Manrique, Edgar Robert

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales

Huancayo - Perú

2022

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicado a Dios, ya que gracias al él logre concluir mi carrera.

A mi amada hija Daphne Arlette por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más para tener un futuro mejor.

A mi madre y toda mi familia por los sacrificios y esfuerzos que hicieron para ayudarme en culminar mi carrera, a mis compañeros y amigos quienes con sus palabras de aliento nunca me dejaban decaer para que siguiera adelante brindándome un cariño incondicional.

Bach. ELIZABETH MAMANI ATAMARI

DEDICATORIA

A Dios, por ser el inspirador y darnos fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mi familia que gracias a su apoyo pude concluir mi carrera.

A mis padres Adrián y Carmen y a mis hermanos Jimmy y Rosisela por su apoyo y confianza. Gracias por ayudarme a cumplir mis objetivos como persona y estudiante. A mi padre por brindarme los recursos necesarios y estar a mi lado apoyándome y aconsejándome siempre. A mi madre por hacer de mí una mejor persona a través de sus consejos, enseñanzas y amor. A mis hermanos por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar.

Bach. ALI ANIBAL FLORES VERA

AGRADECIMIENTO

Primeramente, le agradezco a Dios por ser el motor principal en mi vida, por acompañarme y permitirme confiarle mis anhelos con la certeza de que estos se materializarán. Les agradezco a mis padres porque desde muy pequeño me enseñaron el significado de perseverar y luchar por nuestros sueños, a mis hermanos porque fueron mis primeros compañeros de vida y quienes me enseñaron desde el momento que nació lo esencial que es un equipo.

Le debo este logro a esta bella universidad. Así mismo estoy en deuda con todos los docentes que desde su sentido humano me cultivaron el gusto por aprender, quienes día a día luchan para educar a ciudadanos íntegros y humanos desde cada cátedra que pueden dictar.

Este logro más que mío es de todos aquellos que lo hicieron posible y jamás me alcanzarán las palabras para agradecerles por tanto.

Bach. ELIZABETH MAMANI ATAMARI

Bach. ALI ANIBAL FLORES VERA

JURADO

PRESIDENTA

MIEMBRO SECRETARIA

MIEMBRO VOCAL

MIEMBRO SUPLENTE

DECLARACION JUURADA SIMPLE

Yo, **ELIZABETH MAMANI ATAMARI** de nacionalidad peruana, identificado con D.N.I. N° 44195673, tesista de la universidad privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en Jirón Alfonso Ugarte N° 479 Urb. Jorge Chávez – Juliaca - San Román – Puno, **DECLARO BAJO JURAMENTO QUE TODA LA INFORMACIONES AUNTENTICA Y VERAZ** me afirmo y refirimo en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 30 días de Julio del 2022



.....
Bach. Elizabeth Mamani Atamari

D.N.I. 44195673

DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, **ALI ANIBAL FLORES VERA** de nacionalidad peruana identificado con D.N.I. N° **47360484**, tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en Jirón Naciones Unidas N° 240 Urb. Cincuentenario Miraflores - San Miguel - San Roman – Puno, DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACION ES AUTENTICA Y VERAZ

Me afirmo y reafirmo en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 30 de julio del 2022.



.....
Bach. Ali Anibal Flores Vera
D.N.I. N° 47360484



ÍNDICE GENERAL

| | Páginas |
|--|----------------|
| Resumen | viii |
| Abstract | ix |
| I.INTRODUCCIÓN | 01 |
| II.METODOLOGÍA | 10 |
| 2.1 Tipo y nivel de la investigación | 10 |
| 2.2 Diseño de la investigación | 10 |
| 2.3 Población, muestra y muestreo | 10 |
| 2.4 Variables de investigación | 10 |
| 2.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos | 12 |
| 2.6 Aspectos éticos | 14 |
| 2.7 Procesamiento y análisis de datos | 14 |
| III.RESULTADOS | 16 |
| IV.DISCUSIÓN | 20 |
| V. CONCLUSIONES | 21 |
| VI. RECOMENDACIONES | 22 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 23 |
| ANEXOS | 27 |

RESUMEN

La *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart. conocida comúnmente como “llangua”, es una planta que actualmente presenta pocas investigaciones que corroboren sus propiedades medicinales, por lo anteriormente expuesto, el objetivo de la investigación fue determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*. La muestra vegetal fue recolectada del Centro Poblado Sargento Lores, distrito y provincia de Jaén, departamento de Cajamarca, lo cual fue validado con un certificado de identificación taxonómica emitido por un botánico experto. El extracto hidroalcohólico se obtuvo por maceración del material vegetal seco, además; se realizó el reconocimiento de metabolitos secundarios a través del tamizaje fitoquímico. La actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico se evaluó por el método de difusión en agar a las concentraciones del 25 %, 50 %, 75 % y 100 % frente a *Escherichia coli*. Se reportaron los siguientes resultados: el extracto hidroalcohólico de las hojas llangua presento buena solubilidad únicamente en solventes de naturaleza polar, mediante el tamizaje fitoquímico se pudo evidenciar la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides; finalmente no se evidencio efecto antibacteriano, reportándose halos de inhibición de 6 mm de igual medida al control negativo de agua destilada. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” no presento actividad frente a *Escherichia coli*

Palabras claves: *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart, extracto hidroalcohólico, llangua, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Cybistax antisyphilitica (Mart.) Mart. Commonly known as "llangua", it is a plant that currently presents few investigations that corroborate its medicinal properties, due to the above, the objective of the investigation was to determine the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart "llangua" against *Escherichia coli*. The plant sample was collected from the Centro Poblado Sargento Lores, district and province of Jaén, department of Cajamarca, which was validated with a taxonomic identification certificate issued by an expert botanist. The hydroalcoholic extract was obtained by maceration of dry plant material, in addition; the recognition of secondary metabolites was carried out through phytochemical screening. The antibacterial activity of the hydroalcoholic extract was evaluated by the agar diffusion method at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% against *Escherichia coli*. The following results were reported: the hydroalcoholic extract of the llangua leaves presented good solubility only in solvents of a polar nature, through phytochemical screening the presence of phenolic compounds, flavonoids, alkaloids could be evidenced; Finally, no antibacterial effect was evidenced, reporting inhibition halos of 6 mm of equal measure to the negative control of distilled water. It is concluded that the hydroalcoholic extract of the leaves *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart "llangua" did not present activity against *Escherichia coli*

Keywords: *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart, hydroalcoholic extract, llangua, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de antibióticos en el prevención y tratamiento de las enfermedades infecciosas ha contribuido a la aparición de cepas resistentes, con nuevos mecanismos de resistencia antimicrobiana, lo que justifica los diferentes cambios en el perfil de sensibilidad y resistencia presentados por los agentes etiológicos de las enfermedades infecciones.

La situación de las resistencias a los antimicrobianos es alarmante ya que muchas de las cepas son resistentes a tres o más familias de antimicrobianos, lo que hace que las bacterias sean consideradas como multirresistentes. Los microorganismos pueden presentar resistencia innata o adquirida.¹

Según Akova², Señala que la resistencia a múltiples fármacos da origen a infecciones difíciles de tratar o incluso intratables con antimicrobianos convencionales, el uso de antibióticos de amplio espectro es frecuente y en su mayoría innecesaria, por lo cual esto ha causado un elevado incremento en la resistencia emergente asociándose de igual manera con prácticas inadecuadas en el control de infecciones.

Nuestro país forma parte de los “países megadiversos”, esto se debe a que presenta una diversidad ecológica de climas, de pisos ecológicos y zonas de producción, y de ecosistemas productivos, que permiten el desarrollo de una variedad de especies vegetales, utilizadas por las comunidades rurales e indígenas para el tratamiento de diversas enfermedades. Desde tiempos ancestrales el uso de las plantas medicinales ha sido el principal medio de curación para los pobladores, quienes las usan con fines terapéuticos basados en el conocimiento empírico de sus propiedades, muchas de estas plantas carecen de estudios de investigación que sustenten sus propiedades curativas, por esto es necesario realizar un estudio de las diversas especies vegetales, para determinar los compuestos que brindan las propiedades medicinales.³

Varios estudios han demostrado la actividad de las especies vegetales como posibles alternativas fitoterápicas como coadyuvantes para el tratamiento de diferentes patologías. Por ejemplo, Corzo, 2012 demostró que el extracto de *Cestrum buxifolium* Kunth es eficaz para *Escherichia coli*, *Pseudomonas auroginosa*, *Staphylococcus aureus*.⁴ Pimentel, 2015 determinó que los extractos de *Origanum vulgare* (orégano), *Tagetes elliptica* (chincho) y del *Tagetes minuta* (huacatay) comparado con Clorhexidina al 0.12% y Colgate Plax(pasta de dientes) frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 y *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 que generó una actividad antibacteriana.⁵ Esto puede suceder a los componentes químicos que poseen las plantas en su metabolismo convirtiéndolas en una bomba de principios activos, por tal motivo cada población con este conocimiento ancestral a desarrollando una forma de atenuar y curar dolencias a partir de plantas medicinas.⁶

Las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” son utilizadas comúnmente en la medicina tradicional para el tratamiento de la sífilis y como diurético. Otro uso tradicional es para tratar la linfangitis(afección de vasos linfáticos). Pero no existe investigaciones que reporten actividad del extracto de las hojas de esta planta frente a *Escherichia coli*.

Por lo tanto, considerando el escenario crítico que surge de la resistencia bacteriana tanto en el entorno hospitalario como en la comunidad y tomando en cuenta las propiedades medicinales que se indicó párrafos anteriores que presenta las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua”, nos lleva a plantearnos el siguiente problema general de la investigación:

¿ Tendrá actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*?

Asimismo, nos formulamos los siguientes problemas específicos:

- ¿Tendrá actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” al 100%, frente a *Escherichia coli*?

- ¿ Tendrá actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” al 75%, frente a *Escherichia coli*?
- ¿ Tendrá actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” al 50%, frente a *Escherichia coli*?
- ¿ Tendrá actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” al 25%, frente a *Escherichia coli*?

Los antecedentes nacionales considerados en el presente estudio, tenemos:

Coello B, Mejía C. (2021), realizaron la investigación cuyo objetivo fue “Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Ricinus communis* (higuerilla) contra *Escherichia coli*. Métodos: Se empleó el método de maceración en frío para la obtención del extracto etanólico de la planta, la determinación de la actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* se realizó mediante el método de difusión en pozo de agar empleando la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, se preparó el extracto a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% con etanol de 96°, se realizaron 30 réplicas por cada extracto y emplearon como control negativo el etanol 96° y control positivo el ciprofloxacino, las lecturas se realizaron a las 24 horas de la incubación de las muestras a 35°C + 0.5. Resultado: Los resultados encontrados en el estudio con respecto a los halos de inhibición formados de los extractos etanólicos de *Ricinus communis* (higuerilla) a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% fueron respectivamente 10.62mm + 0.06, 13.44mm + 0.05, 15.94mm + 0.06 y 17.54mm + 0.05, el control negativo tuvo un halo de inhibición de 6.03mm + 0.01 y 38.74mm + 0.07 el control positivo. Conclusiones: Se determinó actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de *Ricinus communis* (higuerilla) a todas las concentraciones estudiadas sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, pero el efecto antibacteriano encontrado no fue similar al ciprofloxacino.⁷

Ñañez J, Vivas E. (2021), realizaron la investigación que tuvo como objetivo “Evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027”. Para el desarrollo de la evaluación microbiológica utilizaron el método de difusión en disco y la medición de los halos de inhibición para evaluar el efecto inhibitorio, trabajando el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill. a concentraciones de 20%, 40% y 60% frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, y se comparó con los antibióticos Amoxicilina y Azitromicina como control positivo. Reporto los siguientes resultados: el extracto hidroalcohólico presentó actividad antibacteriana con diferentes grados de sensibilidad, a una concentración de 60%, la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 es muy sensible con un diámetro de 15.01 ± 0.06471 mm y la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 presenta una sensibilidad baja con un diámetro de 10.59 ± 0.12942 mm.⁸

Sprenger L. et al. (2017), en su estudio el objetivo fue “evaluar el efecto antibacteriano de los extractos de las hojas de *Polygala spectabilis* y *Ficus carica*”. En esta evaluación se usaron las siguientes bacterias: *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*; y se empleó el método de dilución en caldo con concentraciones exponenciales (20 µg/mL a 2560 µg/ml). El extracto de *Ficus carica* mostró una mejor eficacia contra todas las bacterias estudiadas; obteniendo una concentración bactericida mínima (CBM) para *Clostridium perfringens* de 1280 µg/mL, *Escherichia coli* de 2560 µg/mL, *Pseudomonas aeruginosa* de 1280 µg/mL y *Staphylococcus aureus* de 320 µg/mL. En cambio el extracto de *Polygala spectabilis* tuvo acción solamente contra *Staphylococcus aureus* (CBM de 2560 µg / mL). Concluyendo que el extracto de *Ficus carica* es una buena alternativa como antimicrobiano.⁹

Uribe A. (2017), en su investigación realizada tuvo como objetivo “Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Zingiber officinale* (Jengibre) mediante los métodos de Macrodilución y Difusión en agar”. Las cepas utilizadas fueron: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27833, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Como control positivo se usó Gentamicina y como control negativo una solución de

etanol/agua a concentración 1:1. Los resultados demuestran que con el método de difusión en agar, el extracto etanólico de *Zingiber officinale* procedente de Iquitos y Lamas, no presentaron actividad antibacteriana frente a *E. coli* y *P. aeruginosa* a concentraciones de 12mg y 6mg, por no evidenciarse el halo de inhibición; frente a *Staphylococcus aureus*; la muestra procedente de Lamas presentó un halo de inhibición de 9.3 ± 0.6 mm y 8.7 ± 1.2 mm a la concentración de 12mg/ml y 6mg/ml respectivamente, mientras que para el extracto etanólico de Iquitos, a concentración 12mg/ml tuvo un halo de inhibición 10.7 ± 1.2 y a concentración 6mg/ml presentó un halo 9.0 ± 1.0 . Mediante el método de macrodilución, el extracto procedente de Lamas demostró ser poco activo frente a *S. aureus* (CMI: 8mg/ml) mientras que para *E. coli* y *P. aeruginosa* demostró ser inactivo. El extracto etanólico procedente de Iquitos frente a *Staphylococcus aureus* (CMI: 16mg/ml) demostró ser inactivo. Se concluye que el extracto etanólico de *Zingiber officinale*, no presenta actividad antibacteriana a las concentraciones de 6 y 12mg/ml.¹⁰

Asimismo, entre los precedentes internacionales se consideran los siguientes:

Pérez O, Alvarado R, Yacarini A.(2021), realizaron en Bolivia la investigación cuyo objetivo fue “Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Origanum vulgare* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922”. El estudio fue experimental, se emplearon 72 unidades experimentales, constituidas por un tipo de extracto etanólico tres concentraciones, tres especies bacterianas y 8 repeticiones por grupo experimental. A través del método de dilución doble seriada se determinaron las diferentes concentraciones, para la actividad antibacteriana se empleó el método de difusión en pozo. Se emplearon concentraciones de 80, 40 y 20 mg/mL. El extracto etanólico presentó actividad antibacteriana *in vitro*, con un promedio del tamaño los halos de inhibición para *S. aureus* de 21.64, 15.24 y 11.45 mm, *P. aeruginosa* 13.31, 12.27 y 7.35 mm, *E. coli* de 12.5, 11.40 y 10.6 mm para las diferentes concentraciones. Se concluye que el extracto etanólico de *O. vulgare* tienen capacidad antibacteriana sobre *S. aureus* ATCC 29213, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922.¹¹

Ramirez R. (2013) evaluó la actividad antibacteriana de seis plantas *Potentilla candicans*, *Borago officinalis*, *Gnaphalium viravira*, *Caesalpinia spinosa*, *Taraxacum officinalis* y *Helichrysum italicum* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, De los doce extractos derivados de las seis plantas analizadas, solo una planta mostraron efecto inhibitorio *Helichrysum italicum* para las bacterias grampositivas evaluadas (*S. aureus* ATCC 43300 y *E. faecalis* ATCC51299).¹²

Corrales L, Castillo A, Melo A (2013), evaluaron el potencial antibacteriano de los extractos etanólicos y de éter de petróleo de *Croton lechleri*, frente a cepas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. La evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana in vitro, se realizó mediante las pruebas de difusión en disco, dilución en agar y difusión en pozo métodos estandarizados por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), evidenciaron que el extracto de éter de petróleo presentó mejores resultados con la técnica de difusión en pozo a diferencia de la técnica de difusión en disco, debido a que el extracto se difunde libremente en el agar y el extracto etanólico presentó mejores resultados con la técnica de dilución en agar debido a su carácter polar.¹³

Desarrollando el marco teórico de la presente investigación tenemos, la *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” es la única especie del género *Cybistax*, es un árbol que crece de 6 a 12 metros de altura. El tronco tiene un diámetro de 30 – 40 cm y la madera es de grano fino, de color claro, buena en la construcción de muebles. Las hojas son de color verde grisáceo, opuestas, palmeadas. Al comienzo de la primavera, las plantas llevan, en los extremos del carnero, vistosos racimos de flores de color amarillo brillante en forma de embudo, de 2–2.5 cm de ancho.¹⁴

Esta planta se cultiva por sus hojas en los Andes peruanos. Se adapta a zonas subtropicales o tropicales de hasta 2.000 metros. Prefiere una posición soleada y suelos arenosos y rocosos con buen drenaje.

La propagación se realiza sembrando. Las semillas, tan pronto como maduran, se colocan, si es posible, en un semillero o en contenedores individuales. Las tasas de germinación son típicamente superiores al 60%, y las semillas brotan en 15-25 días.¹⁴

Entre los usos tradicionales de la *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” tenemos en particular, la corteza y las ramas jóvenes se consideran antisifilíticas, purificantes y estimulantes; También se usan para tratar la retención urinaria y el edema. Se obtiene un tinte azul de las hojas de esta planta, como sustituto del índigo. La madera de color claro tiene una textura fina y un peso ligero a moderadamente pesado. Se considera adecuado para construcciones generales, aplicaciones internas, tornos, carpintería general, cajas de embalaje y como fuente de fibra para papel de escribir.¹⁵



Figura 01: *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” en su hábitat

Fuente: Elaboración propia

En segundo lugar, tenemos que la *Escherichia coli* es una bacteria gram negativa, cuyo hábitat natural es el tracto gastrointestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, por eso, la presencia de este microorganismo en un producto que indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal. Hoy en día, *Escherichia coli* es el indicador de contaminación fecal más utilizado.¹⁶ Esta bacteria se destruye a temperatura de pasteurización y también durante su almacenamiento en frío. Las cepas de *Escherichia coli* se encuentran en las heces y pueden pasar a los productos de consumo, ya sea por prácticas antihigiénicas o por materias primas contaminadas con el uso de aguas fecales.¹⁷ Se la involucra con infecciones en el tracto urinario, aunque son divididas en extraintestinales e intestinales, las cuales pueden producir: septicemia, meningitis, neumonía, sobreinfecciones periodontales debido a que son microorganismos exógenos es decir, no son habituales en la boca y que no producen afecciones típicas bucales; la presencia de bacterias entéricas podría complicar el cuadro clínico de pacientes con periodontitis, las cuales podrían llevar a complicaciones sistémicas al entrar en el torrente sanguíneo, induciendo septicemias, de esta manera las enterobacterias en placa subgingival aumentaría el riesgo de enfermedad cardiovascular.^{18, 19}

El Agar Mac Conkey, es el medio que se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa en muestras clínicas de agua y alimentos. Las colonias de *Escherichia coli* en Agar Mac Conkey son rojas con halo turbio.²⁰

La presente investigación esta orientado en la búsqueda de antimicrobianos a partir de fuentes naturales, justificándose teóricamente este estudio por cuanto aportaría mayor conocimiento respecto a la actividad antibacteriana a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*, así mismo presenta una justificación social, por cuanto de comprobarse su efecto terapéutico, se brindaría una alternativa natural que beneficiaría a la población más alejada y de bajos recursos.

En el presente estudio se consideró como objetivo genearal:

Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*.

Asimismo, nos formulamos los siguientes objetivos específicos:

- Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” al 100%, frente a *Escherichia coli*
- Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” al 75%, frente a *Escherichia coli*
- Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” al 50%, frente a *Escherichia coli*
- Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” al 25%, frente a *Escherichia coli*

II. METODOLOGIA

2.1 Tipo y nivel de investigación

La investigación fue de tipo básica y nivel explicativo.

Tipo básica: la presente investigación tiene como objetivo generar conocimiento, respecto a la actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*.

Nivel de investigación: busca interpretar el por qué ocurre un fenómeno. Nuestro estudio busca relacionar las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*.

2.2 Diseño de investigación

El diseño empleado fue experimental, analítico, prospectivo y transversal.

Experimental: Se manipulo la variable independiente

Analítico: Es un estudio que buscó establecer relación de causa-efecto entre las variables de estudio

Prospectivo: la recolección de los datos se realizó conforme ocurre los hechos.

Transversal: La recolección de los datos se desarrollo por única vez en un momento determinado.

2.3 Población y muestra

2.3.1 Población de estudio

La población estará conformada por las hojas de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” procedentes del Centro Poblado Sargento Lores, distrito y provincia de Jaén, departamento de Cajamarca.

2.3.2 Muestra de estudio ³⁰

La muestra estará constituida por 1000 gramos de hojas de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua”

La muestra microbiológica será la cepa de *Escherichia coli*.

2.4 Variable y operacionalización de variable:

2.4.1 Variables de estudio:

Variable independiente: El extracto hidroalcohólico de las de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua”.

Definición conceptual: Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua”.

Definición operacional: Extracto elaborado con una mezcla de alcohol al 70° y las hojas de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua”

Variable dependiente: actividad antibacteriana frente a la cepa *Escherichia coli*

Definición conceptual: El diámetro del halo de inhibición es la inhibición del crecimiento antibacteriano.

Definición operacional: La actividad antibacteriana se evaluará mediante el método de difusión en agar.

2.4.2 Operacionalización de variable

| Variable | Dimensión | Indicadores | Instrumento |
|--|--|--|-------------------------------|
| Variable Independiente: Extracto hidroalcohólico de las de <i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua”. | Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico | Concentración Metabolitos secundarios | Ficha de tamizaje fitoquímico |
| Variable Dependiente: Actividad antibacteriana frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> | Inhibición del halo de crecimiento | Disminución del halo de crecimiento % de inhibición | Medición mediante vernier |

2.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica empleada fue la observación.

Los instrumentos que se emplearon fueron las fichas de observación para el ensayo de la solubilidad, para la marcha fitoquímica y la actividad antibacteriana.

2.6 Procedimientos para la recolección de datos

Se realizó los siguientes procesos:

2.6.1 Recolección y preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua”²¹

Se recolectó 500 gramos de hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua”, procedentes del Centro Poblado Sargento Lores, distrito y provincia de Jaén, departamento de Cajamarca; luego de la selección, limpieza y desinfección se procedió a secar en estufa a 40 °C posteriormente se tritura y se procederá a macerar en mezcla de agua y etanol 70 % durante 10 días con agitación diaria, transcurrido este tiempo se filtro y el líquido filtrado se colocó a la estufa a 40 °C hasta obtener un extracto seco. Finalmente se colocará en un frasco de vidrio color oscuro y se almacenó en refrigeración hasta su posterior uso.

2.6.2 Ensayo de solubilidad²¹

Del extracto seco obtenido, con la ayuda de una varilla de vidrio se utilizó una pequeña muestra y se colocó en cada tubo de prueba, luego se adicionó 1 mL de los siguientes solventes: agua, etanol, metanol, éter de petróleo, acetona, cloroformo, hexano.

2.6.3 Ensayo de la marcha fitoquímica²²

Del extracto obtenido se realizó distintas pruebas de identificación de diversos compuestos químicos por medio de variaciones de coloración o aparición de precipitados, donde se determinó la existencia de los principales metabolitos secundarios.

Ensayo de Shinoda (Flavonoides)

Se adicionó XX gotas del extracto en un tubo, se agregó de 2 a 3 virutas de Magnesio y también gotas de ácido clorhídrico concentrado. La prueba se considera positiva si se produce una coloración roja violeta

Ensayo de Mayer, Dragendorff y/o Wagner. (Alcaloides)

La disolución del extracto se filtra hasta quedar cristalino. Se toma una proporción del colado para la prueba con los reactivos de Mayer, Dragendorff, y Wagner.

Ensayo de Borntrager (Quinonas)

Si la proporción no se encuentra en cloroformo, debe concentrarse el disolvente y el residuo disolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de hidróxido de sodio o potasio al 5 %. La prueba se considera positivo si la etapa acuosa básica se coloreó de rosa, en esta situación se declara (++) o rojo, o también se declara (+++).²³

Ensayo de Baljet (Cumarinas)

Si la proporción del modelo a utilizar no se encuentra en alcohol, se debería concentrar el disolvente y se debe disolver en 1mL de etanol. En seguida, se añadirá 1mL del reactivo. El ensayo se considera verdadero, cuando hay una pigmentación de tono rojo o precipitado rojo (++ y +++).²³

2.6.4 Ensayo antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “lengua” frente a *Escherichia coli*²³

La actividad antibacteriana se realizó en el centro de control analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM por el método de difusión en agar, con este método nos permitió evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “lengua” frente a *Escherichia coli*.

El ensayo se fundamenta en la inhibición del desarrollo bacteriano, mediante la expansión de los elementos activos en un medio sólido y se comprueba en función al desarrollo de halos cerca de las colonias.

Se utilizó las siguientes estimaciones para garantizar una actividad antibacteriana sustancial a un halo de inhibición superior a 18 mm según Rojas²³

2.7 Aspecto ético

Por la naturaleza de la investigación no aplica.

2.8 Procesamiento y análisis de datos

En seguida de obtener los resultados, se realizó el análisis recurriendo a la estadística descriptiva utilizando programa Microsoft Excel - 2019. Los datos fueron representados por los halos de inhibición medidos a las 24 horas de incubación, donde se registró la reducción del halo de crecimiento.

III.- RESULTADOS

Tabla 01. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “Ilangua”

| SOLVENTE | REACCIÓN | RESULTADO |
|-------------|----------------------------------|-----------|
| Agua | 1 mL de agua + 10 mg de extracto | + |
| Etanol | 1 mL de agua + 10 mg de extracto | + |
| Metanol | 1 mL de agua + 10 mg de extracto | + |
| Isopropanol | 1 mL de agua + 10 mg de extracto | - |
| Cloroformo | 1 mL de agua + 10 mg de extracto | - |

Leyenda: (+) soluble; (-) insoluble

Fuente: Elaboración propia

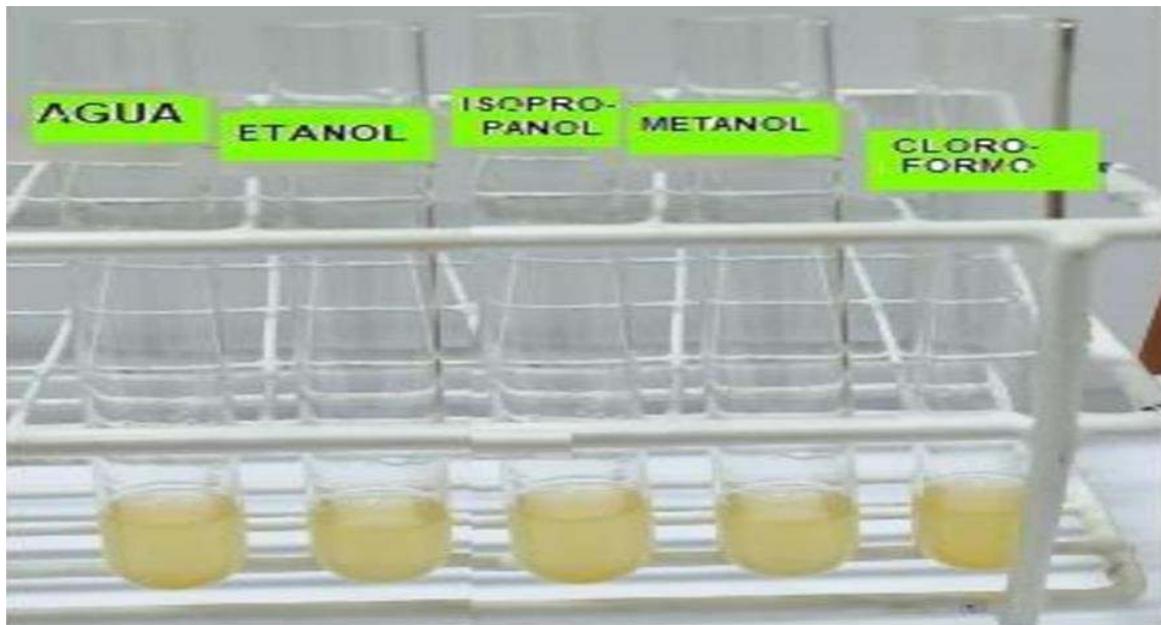


Figura 02. Prueba de solubilidad de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “Ilangua”

Fuente: Elaboración propia

Tabla 02. Metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua”

| | Prueba | Característica de reacción positiva | Resultado del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybastax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” |
|----------------------|-----------------------------|--|---|
| Compuestos fenólicos | Prueba de FeCl ₃ | Coloración verde oscura | + |
| Flavonoides | Prueba de Shinoda | Coloración naranja-rojizo (formación de gas) | + |
| Alcaloides | Prueba de Dragendorf | Precipitado naranja ladrillo | + |
| | Prueba de Popoff | Precipitado de color amarillo | + |
| | Prueba de Mayer | Precipitado blanco amarillento | - |
| Taninos | Gelatina-NaCl | Precipitación | - |
| Saponinas | Espuma | Espuma persistente | - |

Leyenda:

(+): se evidencia presencia del metabolito secundario

(-): no se evidencia presencia del metabolito secundario

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: se puede observar que el extracto hidroalcohólico de las hojas *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua”; presentó una reacción positiva en la determinación de compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides, por otro lado, se evidenciaron reacciones negativas para la prueba de Mayer y la prueba para el reconocimiento de taninos y saponinas.

Tabla 03. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*

| Microorganismo | Longitud de halos de inhibición (mm) -24 horas | | | | | |
|-------------------------|--|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|
| | Control negativo | 25% del Extracto | 50% del Extracto | 75% del Extracto | 100% del Extracto | Control positivo |
| <i>Escherichia coli</i> | | | | | | |
| c1 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 21.28 |
| c2 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 21.59 |
| c3 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 22.13 |
| Promedio | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 21.67 |

*Control positivo: Neomicina 0.2 mg/mL

*Control negativo: Agua destilada

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En la tabla 3, se muestran los resultados de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*. Se observa que los halos de inhibición del control negativo y del extracto a las diferentes concentraciones fueron 6 mm; mientras que el control positivo presento un halo de inhibición promedio de 21.67 mm.

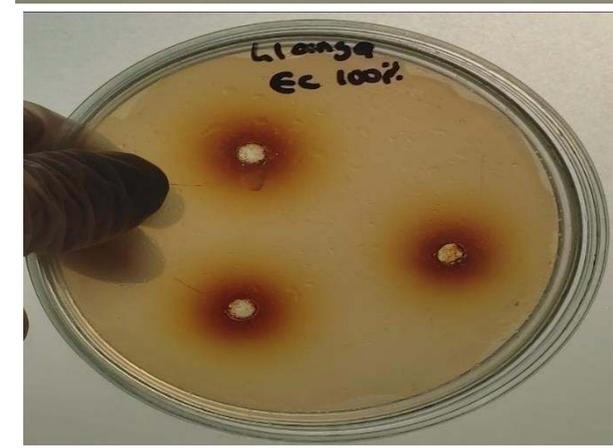
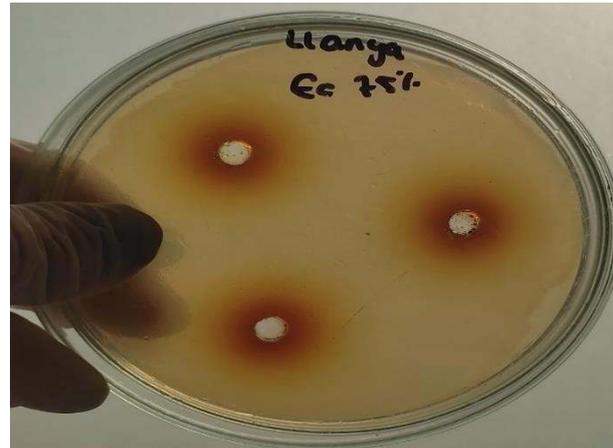
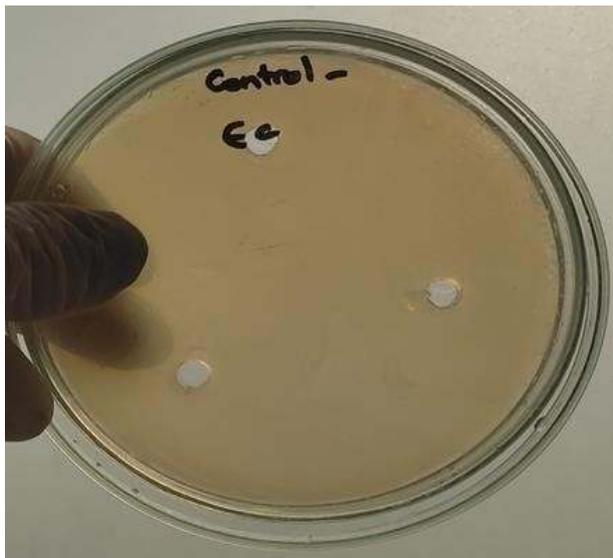


Figura 03. Halos de inhibición producido por el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llanga” frente a *Escherichia coli*

IV- DISCUSIONES

En la tabla 1, se puede apreciar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua”, presenta buena solubilidad en solventes polares como el agua destilada, etanol, metanol. Por el contrario, fue insoluble frente a solventes apolares como la cloroformo, isopropanol; esto se debe a que los diversos metabolitos secundarios que conforman el extracto hidroalcohólico de tiene afinidad a los compuestos polares.

En la tabla 2, se evidencia los resultados de la marcha fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua”. Se identificó la presencia de metabolitos como los compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides, El contenido descrito de metabolitos secundarios es similar a los reportados por Sujata⁸ en el año 2018, quien reportó en el extracto etanólico de frutos de *Annona reticulata*, la presencia de alcaloides, saponina, flavonoides y taninos.

En la tabla 3, se describen los resultados de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*. Se observa que los halos de inhibición para todas las concentraciones del extracto y el control negativo fueron de 6 mm. mientras que el control positivo reporto un halo de inhibición promedio de 21.67 mm. Nuestro resultado es diferente a los resultados obtenidos del estudio realizado por Ñañez y Vivas⁸, que llevaron a cabo la investigación que tuvo como objetivo “Evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% frente a cepas de *Escherichia coli*”. Reporto que el extracto hidroalcohólico presentó actividad antibacteriana con diferentes grados de sensibilidad, a una concentración de 60%, la cepa de *Escherichia coli*.

Al evidenciar que en nuestro ensayo los resultados fueron negativos podrían explicarse que la ausencia de actividad es debido al utilizar un extracto no refinado, por ello el extracto no pudo actuar sobre la bacteria *Escherichia coli*.

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” a la concentración del 100% no presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” a la concentración del 75% no presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” a la concentración del 50% no presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” a la concentración del 25% no presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar las extracciones por diferentes métodos a fin de garantizar un mayor rendimiento del extracto.
- Realizar la separación de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua”.
- Desarrollar ensayos de toxicidad para las diversas fracciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua”, a fin de garantizar su seguridad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Calderón G, Aguilar L. Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Infectología* [Internet]. 2016;(621):757–63. Available from: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/621/art03.pdf>
- 2.- Akova M. Epidemiology of antimicrobial resistance in bloodstream infections. *Virulence* [Internet]. 2016;7(3):252–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/21505594.2016.1159366>
- 3.- Jara A. Análisis fitoquímico y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de la especie *Piper imperiale* (Piperaceae). [Tesis para optar el grado de Químico] Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A Facultad de Ciencia y Tecnología Química; 2013
- 4.- Barragán DCC. Trabajo científico Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. (57):81–6
- 5.- Ramírez E, Andamayo D, Quintana M, Solar D, Torres D. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. 2015;25(3):268–77.
- 6.- L MA, F IC. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. 2010;1288–93
- 7.- Coello B, Mejía C. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Ricinus communis* L. (higuerilla) frente a *Escherichia coli*. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico] Universidad María Auxiliadora: Lima; 2021
- 8.- Ñañez J, Vivas E. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* mill. frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico] Universidad María Auxiliadora: Lima; 2021

- 9.-Sprenger L, Giese E, Santos J, Molento M. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *Ficus carica* e *Polygala spectabilis*. Archives of Veterinary Science [Internet]. 2017 [citado 11 mayo 2022]; 22(3): 1-7. Disponible en: <https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/43464/34109>
- 10.-Uribe A. Actividad antibacteriana in vitro de los rizomas de *Zingiber officinale* (jenjibre) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis de Grado] Nacional De La Amazonía Peruana: Iquitos; 2017
- 11.- Pérze O, Alvarado R, Yacarini A. Actividad antibacteriana in vitro de extracto etanólico crudo de las hojas de *Origanum vulgare*, frente *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922; 2021
- 12.- Ramírez R, Pedraza A, Sáenz M. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a cepas bacterianas multiresistentes. ResearchGate [Internet]. 2013: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Evaluación+de+la+actividad+antimicrobiana+de+extractos+de+plantas+frente+a+cepas+bacterianas+multiresistentes#0>
- 13.-Corrales L, Castillo A, Melo A. Evaluación del potencial antibacterial in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. Rev. Nova. [Revista en internet]. 2013; 11 (19): 01 - 15 [Citado el 13 de mayo del 2022]. Disponible en:<http://unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/article/view/224/448>
- 14.- Trópicos. [Base de datos en internet]. Missouri, Saint Louis: Missouri Botanical Garden: [Actualizado el 24 de Octubre del 2017/ Citado el 14 de mayo del 2022]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/2717708>
- 15.- The International Plant Names Index I.P.N.I. [Base de datos en internet]. Plant Names Project. The Royal Botanic Gardens, Kew, The Harvard University Herbaria, and the Australian National Herbarium. [Actualizado 2005/ Citado el 14 de mayo del 2022].

Disponible

en:

http://www.ipni.org/ipni/idPlantNameSearch.do?id=11046462&back_page=%2Fip

16.- Flores T, Sangama R. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico y etanólico de La hoja de Mansoa alliacea (Ajo sachá) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Iquitos - Perú. [Tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutico]. Iquitos: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; [Tesis en internet]; 2015. [Citado el 14 mayo del 2022]. Disponible en: http://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNAP_89f3045565fb8a63cad356b045139c43/Detail

17.- Forbes B, Baily R, Scott E, Sahn D. Diagnóstico Microbiológico. [Libro en internet]. Argentina: Panamericana; 2009. [Citado el 04 de agosto del 2016]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=239cauKqSt0C&pg=PA187&lpg=PA187&dq=pruebas%20de%20susceptibilidad%20antimicrobiana&source=bl&>

18.- Medina E, Moreno J. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Salvia sagittata* (*Salvia azul*) en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico]. Cajamarca: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antonio Guillermo Urreló; 2016

19.- Medina M. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto de *Equisetum giganteum* L. (Cola de caballo) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*, Arequipa - 2015. [Tesis para obtener el Título de Químico Farmacéutico]. Arequipa: Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, Universidad Católica de Santa María; 2016

20.- Brooks G, Carrol K, Butel J, Morse S. Mietzner Bacteriología. En: Brooks G, Carrol K, Butel J, Morse S, Mietzner. Editores. Jawetz, Melnick, Adelberg Microbiología Médica. 25ª ed. México: Mc Graw Hill Interamericana; 2010. pp. 3 - 48.

21.- Ponce Juan. Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth y actividad fotoprotectora in vitro en una emulsión

dermocosmética. Tesis para optar al Grado de Magister Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2019.

22.-Kuklinski C. Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, Reimpresión. Omega, 1999.

23.-Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. (2003). Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*; 88(2-3): 199-204

Anexo 01: Matriz de consistencia

Título: Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart “llangua” frente a *Escherichia coli*

| Formulación del problema | Objetivo General | Hipótesis | Metodología |
|---|--|--|--|
| <p>Problema General</p> <p>¿ Tendrá actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” frente a <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>Problemas Específicos</p> <p>a) ¿ Tendrá actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” al 100%, frente a <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>b) ¿ Tendrá actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” al 75%, frente a <i>Escherichia coli</i>?</p> | <p>Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” frente a <i>Escherichia coli</i></p> <p>Objetivo Específicos</p> <p>a) Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” al 100%, frente a <i>Escherichia coli</i></p> <p>b) Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” al 75%, frente a <i>Escherichia coli</i></p> | <p>Hipótesis General</p> <p>H₁: el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua”, presenta actividad frente a <i>Escherichia coli</i></p> <p>H₀: el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua”, no presenta actividad frente a <i>Escherichia coli</i></p> | <p>Tipo de investigación</p> <p>El tipo de investigación será tipo básica y nivel explicativo</p> <p>Diseño de la Investigación</p> <p>El diseño será experimental, analítica, prospectivo y transversal</p> <p>Población de estudio</p> <p>La población estará conformada por las hojas de <i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” procedentes del Centro Poblado Sargento Lores,</p> |

| | | | |
|---|---|--|--|
| <p>c) ¿ Tendrá actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” al 50%, frente a <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>d) ¿ Tendrá actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” al 25%, frente a <i>Escherichia coli</i>?</p> | <p>c) Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” al 50%, frente a <i>Escherichia coli</i></p> <p>d) Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart “llangua” al 25%, frente a <i>Escherichia coli</i></p> | | <p>distrito y provincia de Jaén, departamento de Cajamarca</p> <p>Técnicas e instrumentos de recolección de datos</p> <p>La técnica que se utilizará en el presente estudio será la observación.</p> <p>Los instrumentos que se emplearan serán las fichas de observación para el ensayo de la solubilidad, para la marcha fitoquímica y la actividad antibacteriana.</p> |
|---|---|--|--|

Anexo 02: Clasificación taxonómica de la especie vegetal



CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

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

CERTIFICA:

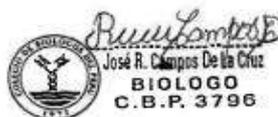
Que, ELIZABETH MAMANI ATAMARI y ALI ANIBAL FLORES VERA, tesistas de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta silvestre conocida con el nombre vulgar de "llangua", la muestra fértil con flores y frutos ha sido identificada como *Cyristax antisyphilitica* (Mart.) Mart. Según la base de datos de Tropicos del Missouri Botanical Garden que sigue el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, el sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. - Mark W. Chase & James L. Reveal (2009 – APG III) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de la base w Tropicos, APG III y APG IV, la especie identificada tiene las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae
División: Angiospermae
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Asteranae
Orden: Lamiales
Familia: Binoniaceae
Género: *Cyristax*
Especie: *Cyristax antisyphilitica* (Mart.)

Nombre vulgar: "llangua"

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 07 de marzo del 2022



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

Anexo 03: Certificado de la evaluación antibacteriana del del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart.) Mart "llangua" frente a *Escherichia coli*



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA

PROTOCOLO DE ANÁLISIS N° 00194 -CPF-2022



ORDEN DE ANÁLISIS : 0196-2022
SOLICITADO POR : ELIZABETH MAMANI ATAMARI
DIRECCIÓN : -
MUESTRA : EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS *Cybastax antisiphilitica* (Mart) Mart. "llangua"
CANTIDAD : 1 frasco por 3.40 g aprox.
FECHA DE RECEPCIÓN : 13 de mayo de 2022
FECHA DE FABRICACIÓN : -
FECHA DE VENCIMIENTO : -

| MICROORGANISMO | EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS <i>Cybastax antisiphilitica</i> (Mart) Mart. "llangua" | | | | | |
|-------------------------|--|------------------|------|-----|-----|-----|
| | Longitud de halos de inhibición (mm) | | | | | |
| | Control positivo | Control negativo | 100% | 75% | 50% | 25% |
| <i>Escherichia coli</i> | 21.28 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | 21.59 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | 22.13 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

- * El tamaño de los pocillos es de 6 mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halos de inhibición.
- * Dilución de la muestra: 1,0430 g del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart) Mart. "llangua" en 2,200 mL de agua destilada.
- * Volumen inoculado: 40 µL.
- * Concentración del inoculo: 1×10^8 UFC/mL.
- * Control positivo: Neomicina sulfato 0.2 mg/mL.
- * Control negativo: agua destilada
- * 100%, 75%, 50% y 25%: diluciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cybastax antisiphilitica* (Mart) Mart. "llangua"

Lima, 27 de Mayo del 2022

Q.F. Paul Ivan Gutierrez Elescano
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima I - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima I
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS
Certification



Anexo 04: Certificado de la cepa *Escherichia coli*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

| | |
|---|---|
| Specifications Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0483 Lot Number: 483-1122** Reference Number: ATCC® 8739™* Passage from Reference: 3 | Expiration Date: 2023/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D. Quevi Release Date: 2021/4/13 |
|---|---|

| Performance | |
|---|---|
| Macroscopic Features: Medium to large, gray, mucoid, convex. Microscopic Features: Gram negative straight rod. | Medium: SBAP Method: Gram Stain (1) |
| ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document. | Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE |

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



Anexo 05: Evidencia de recolección de la especie vegetal

