

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA



**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
LAS HOJAS DE *Jungia rugosa* Less (matico serrano) SOBRE
CEPAS DE *Staphylococcus aureus*”**

**Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico**

TESISTAS:

Bachiller. CONDORI CUCCHI, INES

Bachiller. RODRIGUEZ TOMÁS, KELI MABEL

ASESORA: Dra. Britt Alvarado Chávez

LIMA - PERÚ

2018

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a todas las personas que día a día se esfuerzan para alcanzar sus metas.

A mi familia, por estar siempre unidos y, en especial, a mis dos amores por darme tanta felicidad.

Inés

A Dios, mi guía espiritual, en el derrotero de mi existencia.

A Miguel Ángel y Domiciana, mis padres, por su amor y confianza infinita.

A William, hermano y confidente, en mis momentos difíciles.

A Mari y Aní, mis hermanas, por la paciencia que me brindaron en mis años de estudio.

A mis sobrinos, por ser la alegría de mi vida.

Keli Mabel

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por permitirme terminar un escalón más en mi vida académica.

A los docentes de la universidad, por darnos a conocer sus experiencias en lo académico y profesional.

Inés

A Dios, por darme la vida y a mis padres por el apoyo brindado, durante mis años de estudio.

A mi abuelita Rogelia, por ser mi segunda madre.

Mi más sincero agradecimiento a las autoridades y docentes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la UIGV, quienes me formaron en esta hermosa y sacrificada carrera.

A la Dra. Britt Alvarado Chávez, por su vocación y paciencia en asesorar nuestra tesis.

Keli Mabel

ABREVIATURAS

ATCC:	American Type Culture Collection.
CAT:	Catalasa
CLSI:	The Clinical & Laboratory Standards Institute
CMI:	Cantidad Mínima Inhibitoria
CMB:	Cantidad Mínima Bacteriana
DMSO:	Dimetil sulfoxide
DPPH:	2, 2 - dimetilpicrihidrazilo
EUCAST:	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GSH:	Glutación reducido.
INS:	Instituto Nacional de Salud
OMS:	Organización Mundial de la Salud
OECD:	Organization for Economic Co - operation and Development
OSD:	Superoxido dismutasa
TSA:	Trypticasa Soya Agar
TICA:	The International Compositae Alliance
TGI:	Tracto gastro intestinal

ÍNDICE

Acta de sustentación
Dedicatoria
Agradecimiento
Abreviaturas
Índice de tablas
Índice de figuras
Índice de anexos
Resumen
Abstract

Página

Introducción.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2. Problema.....	3
1.2.1. Problema general.....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
1.3. Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	4
1.4. Justificación.....	4
1.5. Limitaciones metodológicas.....	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	6

2.1.	Estado del arte.....	6
2.1.1.	Antecedentes nacionales.....	6

2.1.2. Antecedentes extranjero.....	9
2.2. Bases teóricas y/o legales.....	13
2.2.1. Descripción general <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano).....	13
2.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.2.3. Dicloxacilina. descripción y farmacocinética.....	17
2.3. Hipótesis.....	18
2.3.1. Hipótesis general.....	18
2.3.2. Hipótesis específicas.....	18
2.4. Definición de términos básicos.....	20
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	22
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	22
3.2. Población y muestra.....	22
3.3. Equipos, materiales y reactivos.....	23
3.4. Procedimiento experimental.....	25
3.5. Procesamiento de datos.....	34
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....	35
4.1. Presentación.....	35
4.2. Contrastación de hipótesis.....	41
4.3. Discusión.....	53
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	55
5.1. Conclusiones.....	55
5.2. Recomendaciones.....	55
REFERENCIAS.....	57
ANEXOS.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

		pág.
Tabla 01:	Manifestaciones clínicas.	18
Tabla 02:	Operacionalización de variables.	19
Tabla 03:	Marcha fitoquímica.	28
Tabla 04:	Prueba de solubilidad en diferentes solventes.	29
Tabla 05:	Efecto antibacteriano.	33
Tabla 06:	Resultado de marcha fitoquímica <i>Jungia rugosa</i> Less.	35
Tabla 07:	Resultado de prueba de solubilidad <i>Jungia rugosa</i> Less.	36
Tabla 08:	Prueba de cromatografía en capa fina <i>Jungia rugosa</i> Less.	36
Tabla 09:	Escala de Duraffourd.	37
Tabla 10:	Resultado de medición de los halos de inhibición en mm a la concentración de 40% <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano)	38
Tabla 11:	Resultado de medición de los halos de inhibición en mm a la concentración de 60% <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano).	39
Tabla 12:	Resultado de medición de los halos de inhibición en mm a la concentración de 80% <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano).	40
Tabla 13:	Resultado de T de una muestra a las concentraciones de 40%, 60% y 80% de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano).	45
Tabla 14:	Resultado de análisis de varianza a las concentraciones de 40%, 60% y 80% de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano).	46
Tabla 15:	Resultado del estadístico de Tukey a las concentraciones de 40%, 60% y 80% de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano).	47

Tabla 16:	Resultado de T de una muestra a las concentraciones de 40%, 60% y 80% de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano).	50
Tabla 17:	Porcentaje de los halos de muestra de <i>Jungia rugosa</i> .L	52

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N° 1: <i>Jungia rugosa</i> Less	13
Figura N° 2: Estructura química de la dicloxacilina	18
Figura N° 3: Esquema de estandarización de <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Figura N° 4: Esquema de la actividad antibacteriana	34
Figura N° 5: Cromatografía en capa fina de alcaloides y flavonoides de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano)	37
Figura N° 6: Gráfica de distribución de datos de los halos de inhibición.	44
Figura N° 7: Lectura de los halos de inhibición	48
Figura N° 8: Gráfica de distribución de datos de los halos de inhibición conteniendo a las muestras y control positivo	49
Figura N° 9: Grafica de los porcentajes de inhibición	51

INDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 01: Matriz de consistencia	61
Anexo 02: Constancia taxonómica de <i>Jungia rugosa</i> L. (matico serrano).	63
Anexo 03: Certificado de La cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.	64
Anexo 04: Hojas de <i>Jungia rugosa</i> L. (matico serrano).	65
Anexo 05: Extracto etanólico de las Hojas de <i>Jungia rugosa</i> L.	65
Anexo 06: Rendimiento del proceso de extracción del extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> . L (matico serrano).	66
Anexo 07: Rotavapor del extracto etanólico de las Hojas de <i>Jungia rugosa</i> (matico serrano).	66
Anexo 08: Tamizaje fitoquímico de <i>Jungia rugosa</i> (matico serrano).	67
Anexo 09: Cromatografía en capa fina de <i>Jungia</i> (matico serrano).	67
Anexo 10: Reactivación de los cultivos de cepa <i>Staphylococcus aureus</i>	68
Anexo 11: Preparación y estandarización de los inóculos de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>	68
Anexo 12: Preparación de dicloxacilina 150mg/ml	69
Anexo 13: Formulación de las concentraciones del extracto etanólico de las Hojas de <i>Jungia rugosa</i> (matico serrano) y volumen de diluyente.	69
Anexo 14: Preparación del medio de cultivo	70
Anexo 15: Determinación de la actividad antibacteriana	70
Anexo 16: Lectura de resultados de halos inhibitorios	71
Anexo 17: Fichas de observación AD-HOC	72

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. posee efecto antibacteriano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Metodología el estudio fue de tipo experimental, diseño experimental mixto, transversal, *in vitro*. Se usó el método de difusión en agar (excavación en placas), la determinación experimental de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) en concentraciones de (40%, 60% y 80%), considerando como controles de susceptibilidades un blanco como el Dimetil sulfoxido (DMSO) para descartar que la actividad inhibitoria fuese por el solvente del extracto etanólico y un control de actividad antibacteriana como la Dicloxacilina de 500 mg, además se usaron análisis estadísticos tales como (prueba de bondad, ajuste de Anderson Darling, prueba paramétrica de T de 1 muestra, análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey. Resultados mediante la escala de Duraffourd se midió los halos de inhibición después de 24 horas para 40%(24.08 mm), 60%(25.94 mm) y 80%(28.98mm), siendo las cepa de *Staphylococcus aureus* sumamente sensible a las concentraciones. Conclusiones la cepa de *Staphylococcus aureus* es sumamente sensible a las concentraciones de 40%, 60% y 80% de *Jungia rugosa* Les, según la escala de Duraffourd y los estadísticos aplicados como Anova y Tukey. Comparando la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) al 80%, es la concentración de mayor actividad antibacteriana comparado con la Dicloxacilina, que pudiera remplazar la actividad del fármaco. Criterio de aceptación: Si $P_{valor} < 0.05$.

Palabras clave:

Staphylococcus aureus, *Jungia rugosa* Less, actividad antibacteriana, ATCC

ABSTRACT

The objective of this work was to determine if the ethanolic extract of the leaves of *Jungia rugosa* L. has an antibacterial effect on the strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Methodology The study was of experimental type, mixed experimental design, transverse, in vitro. The method of agar diffusion (plate excavation), the experimental determination of the antibacterial activity of the ethanolic extract of the leaves of *Jungia rugosa* Less (Matico serrano) in concentrations of (40%, 60% and 80%), was used. as controls of susceptibilities a target such as Dimethyl Sulfoxide (DMSO) to rule out that the inhibitory activity was by the solvent of the ethanolic extract and a control of antibacterial activity such as Dicloxacillin 500 mg, in addition statistical analyzes such as (goodness test , adjustment of Anderson Darling, parametric test of T of 1 sample, analysis of variance (ANOVA) and Tukey test Results by means of Duraffourd scale inhibition halos were measured after 24 hours for 40% (24.08 mm), 60 % (25.94 mm) and 80% (28.98mm), with the *Staphylococcus aureus* strain being highly sensitive to concentrations. Conclusions The strain of *Staphylococcus aureus* is highly sensitive to 40%, 60% and 80% of *Jungia rugosa* Les, according to the Duraffourd scale and the statisticians applied as Anova and Tukey. The measurements of the halogenated test have an antibacterial effect, compared to the positive control of Dicloxacillin at a concentration of 150 mg / mL, with 80% being able to replace the drug Acceptance criteria: If Pvalue <0.05.

Keywords:

Staphylococcus aureus, *Jungia rugosa* Less, antibacterial activity, ATCC

INTRODUCCIÓN

El Perú es uno de los países con gran biodiversidad botánica, lo que ha llevado que desde épocas ancestrales se use las plantas medicinales. Actualmente las plantas son una alternativa o complemento a los tratamientos para la cura de las enfermedades, siendo alrededor del 80% de la población que considera el uso de las plantas medicinales y con más frecuencia en las zonas alejadas a la ciudad donde la disponibilidad de medicamentos es escasa o casi nula.

El tratamiento a las enfermedades infecciosas es un poco más complicada de manejar, debido a la naturaleza de su origen y los tratamientos previos que haya recibido el paciente, se ha observado que los microorganismos han desarrollado la resistencia a los antibióticos, que complica el estado de salud de los pacientes.

Los organismos de salud han reportado que los microorganismos más resistentes a los tratamientos farmacológicos son, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Micobacterium tuberculosis*, que requieren, por tanto, atención urgente para la búsqueda de alternativas terapéuticas en el campo farmacológico.

Ante tal panorama de nuestra sociedad, la investigación consideró el estudio de una de las plantas medicinales que utiliza la población para tales fines, evaluó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* (Matico serrano) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. De esta manera con la ayuda de la naturaleza se facilitará que las personas sean expuestas a menos efectos secundarios, ocasionados por los medicamentos, como son principalmente las alergias o resistencia microbiana.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Uno de los problemas más grandes de salud es la resistencia microbiana que se ha generado en el hombre, esto debido al uso indiscriminado e irracional de los antibióticos, problema que se ve reflejado cuando los pacientes acuden a los hospitales, haciéndose más dificultoso su tratamiento. Debido a este problema, la OMS ha podido elaborar una lista de microorganismos que han adquirido resistencia a varios antibióticos, entre ellas están: *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Serratia*, *Proteus*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter spp.*, *Salmonellae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae*.⁽¹⁾

Ante esta problemática, las investigaciones en la actualidad están dirigidas a conocer el mecanismo y causas que originan esta resistencia y así como la creación de nuevos antibacterianos naturales para poder combatirlos.⁽¹⁾ La medicina complementaria o medicina alternativa, es utilizada para el tratamiento paliativo de dolencias y enfermedades crónicas, con la finalidad de mejorar la calidad de vida.⁽²⁾

En el interior de nuestro país, la medicina complementaria es la primera alternativa de los pacientes, por las creencias y efectos positivos que se han conseguido. Es así que la Organización Mundial de la Salud (OMS) como ente rector en salud a nivel mundial, fomenta el uso de la medicina complementaria o medicina alternativa, pero en la mayoría de los países no existen sistemas de vigilancia de la seguridad o el sistema de vigilancia no abarca a las medicinas herbarias.⁽²⁾

La OMS ayuda a recopilar y conservar los conocimientos de la medicina complementaria, pero debido a la idea que lo natural es inocuo, la OMS también respalda la idea que se realice un estudio sobre sus posibles efectos secundarios, así como el ¿Cuándo? y ¿Cómo? se puede tomar las medicinas herbarias sin riesgo.

Debido a dicha problemática, el desarrollo de este estudio comprendió la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa*. L (matico serrano) sobre *Staphylococcus aureus* debido a los reportes que revelan su resistencia a los antibióticos.

1.2. Problema

1.2.1. Problema general:

¿El extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L., (matico serrano) posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*?

1.2.2. Problemas específicos:

1. ¿El extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano) posee metabolitos secundarios?
2. ¿Cuál es la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano) con efecto antibacteriano sobre cepas *Staphylococcus aureus*?
3. ¿El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano) será más eficaz frente a la dicloxacilina 500mg sobre cepas *Staphylococcus aureus*?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general:

Determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano) posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

1.3.2. Objetivos específicos:

1. Identificar algunos de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano) responsables del efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*
2. Determinar qué concentración del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano) posee efecto antibacteriano sobre cepas *Staphylococcus aureus*.
3. Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano), con la actividad de dicloxacilina sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*.

1.4. Justificación

En la actualidad el acceso a los medicamentos es limitada, ya sea en los hospitales y con más razón en los centros de salud, lo que ocasiona que la población no pueda acceder a un tratamiento para las enfermedades que contrae, principalmente enfermedades infecciosas que al no ser tratadas a tiempo y con los antibióticos correctos, conllevan a que las personas generen resistencia a los diversos antibióticos.

A esta aparición de resistencia, le podemos sumar la automedicación que realiza la población, uso incorrecto del medicamento o así como el uso excesivo de algún principio activo en particular, los que complican que se pueda realizar un tratamiento correcto, siendo un gran problema de salud pública.

Ante tal situación, la población recurre a alternativas terapéuticas innovadoras, haciendo que su atención sea rápida y efectiva, como es la medicina natural. Justamente este fue el propósito del estudio: evaluar el efecto antibacteriano del extracto de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

1.5 Limitaciones metodológicas

En el presente estudio de investigación se tuvo inconvenientes en la obtención de la cepa de *Staphylococcus aureus*, así como el tiempo de entrega, esto fue solucionado gracias al laboratorio Microbiológico.

Las limitaciones en la parte práctica para el método de difusión en Agar (excavación en placas) fueron solucionadas gracias al manual de sensibilidad microbiana descrita por el Instituto nacional de salud (INS).

En el desarrollo de la parte fitoquímica presentó algunos inconvenientes en la utilización de reactivos controlados y la preparación de los mismos, se solucionó gracias al laboratorio de la Facultad de la universidad Inca Garcilaso de la Vega.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Estado del arte

2.1.1. Antecedentes nacionales

Bejar, E. et.al. (2016): realizaron un estudio experimental titulado “Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Jungia paniculata* (DC.) A. Gray (matico serrano) sobre el tejido gástrico de ratas injuriado por etanol 70%”. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Jungia paniculata* (DC.) A. Gray (matico serrano) sobre el tejido gástrico de ratas injuriado por etanol 70%. La metodología empleada, se preparó un extracto hidroalcohólico 70% de hojas estabilizadas. La capacidad antioxidante se evaluó mediante DPPH. Se distribuyeron aleatoriamente 24 ratas Sprague - Dowley en 4 grupos: I (NaCl - NaCl), II (NaCl - EtOH), III (extracto 600 mg/kg – EtOH) y IV (extracto 600 mg/kg – NaCl). El estómago fue obtenido por laparotomía, se preparó un homogenizado de la parte glandular y se centrifugó a 2 000 RPM x 5', las pruebas bioquímicas se realizaron en el sobrenadante: cuantificación de GSH reducido, actividad específica de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT). La toxicidad aguda se evaluó a dosis límite. Resultados el extracto presentó una capacidad antioxidante de 4,15 µg/ml en comparación a Vitamina C 2,29 µg/ml. Se observó un incremento de GSH reducido y total en el grupo IV. Con respecto a la toxicidad aguda resultó ser no dañina. Conclusiones el extracto hidroalcohólico en el ensayo fitoquímico presentó alta concentración para flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, también presenta actividad antioxidante y efecto gastroprotector, previniendo la lipoperoxidación e incrementando la capacidad antioxidante (GSH y SOD). (3)

Escobar, et.al. (2017) Realizaron un estudio experimental titulado “Actividad antibacteriana de los extractos de acetato de etilo y acetona del zumo de *Punica granatum* L. (granada)”. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana del extracto de acetato de etilo y acetona del zumo de *Punica Granatum*. La metodología empleada, usaron la prueba de sensibilidad, utilizando la técnica de difusión en disco, los extractos se sometieron a maceración, filtración y finalmente secado. Se prepararon 4 concentraciones de extracto en acetato de etilo y acetona en el zumo de *Punica granatum* L. “granada”; 200 mg/mL. 300 mg/mL. 400 mg/mL. 500 mg/mL. Los cuales fueron enfrentados al crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Las zonas de inhibición se determinó de manera cualitativa de acuerdo a lo establecido a la escala de Durafford; efecto inhibitorio *in vitro* en fitoterapia y según la CLSI en estándares antimicrobianos. Los halos de inhibición formados por *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fueron (16,5; 14 y 12 mm). Los halos de inhibición formados por *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron de (12,5 y 11 mm) y el estudio comparativo fitoterapéutico entre la inhibición microbiana y la cuantificación del ácido elálgico fue inversamente proporcional a la inhibición microbiana. Las conclusiones que llegaron fueron, ambos extractos presentan fitoconstituyentes como taninos, flavonoides y azúcares reductores y que ambos extracto se manifiesta la actividad *inhibitoria frente a Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, más no frente a *Pseudomonas aeruginosa*.⁽⁴⁾

Espejo, et.al. (2014): Realizaron un estudio experimental titulado “Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Piper aduncum* frente a cepas de *porhyromonas gingivalis* estudio *in vitro*”. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Piper aduncum* frente a cepas de *Porhyromonas gingivalis in vitro*. Metodología emplearon un estudio tipo experimental, prospectivo, longitudinal, comparativo; para lo cual se utilizaron 20 cultivos de *Porhyromonas gingivalis*. En todas las muestras se midió el halo de inhibición según los objetivos marcados y

finalmente se compararon dichas medidas. Se procesó las hojas secas para obtener el extracto etanólico, a partir de la masa de extracto seco de *Piper aduncum* se prepararon concentraciones de 0.5%, 0.25% y 0.062% las que fueron preservadas en frascos color ámbar estéril y conservado en refrigeración. Los resultados demostraron que el promedio del diámetro de los halos de inhibición sobre las cepas de *Porphyromonas gingivalis* a las 72 horas del extracto de *Piper aduncum* al 0.5% fue de 8.65 mm, para el de 0.25% fue de 6.25 mm y en menor diámetro para el de 0.062% es de 4.8 mm y a las 96 horas para el extracto de *Piper aduncum* al 0.5% fue de 16.25 mm, para el de 0.25% fue de 10.95 mm y en menor diámetro para el de 0.062% es de 7.35 mm. La conclusión que llegaron fue, el extracto etanólico de *Piper aduncum* (matico) tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Porphyromonas gingivalis* y en las diferentes concentraciones de 0.5%, 0.25% y 0.062%, independientemente muestran un efecto inhibitorio. ⁽⁵⁾

Arriola. et.al. (2014): Realizaron un estudio experimental titulado “Actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de *Piper angustifolium* (matico) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) en cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple”. El objetivos de esta investigación fue evaluar el efecto de los extractos etanólicos de *Piper angustifolium* (matico) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. En la metodología se empleó concentraciones diferentes de extracto de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) y *Piper angustifolium* (matico) y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los pocillos en placas de agar TSA embebidos con cepa de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. Los resultados demostraron que las concentraciones al 100% del extracto de *Piper angustifolium* (matico) mostro una actividad antibacteriana significativa en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* en comparación con el efecto observado de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a concentraciones menores del extracto para ambas especies en estudio el efecto antibacteriano no fue significativo. Del análisis estadístico se infiere que si existen diferencias significativas entre los diámetros promedios de inhibición del crecimiento bacteriano y los

extractos vegetales en estudio ($p < 0.05$). La conclusión que llegaron fue que los extractos etanólico de *Piper angustifolium* (matico) al 100% presentan actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple. El extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) 10, 25 y 50% no presentaron actividad antibacteriana frente a cepa de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. El extracto etanólico de *Piper angustifolium* (Matico) al 10, 25 % no presentaron actividad antibacteriana frente a cepa de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. El extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) 100% presentaron una actividad poco significativa frente a cepa de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. ⁽⁶⁾

2.1.2. Antecedentes extranjeros

Oriani, et.al (1999): Realizaron un estudio experimental titulado “Inhibición de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* por metabolitos de *Pseudomonas aeruginosa*”. El objetivo de este trabajo de investigación fue comprobar la acción tanto *in vitro* como *in vivo*, de los metabolitos de *Pseudomona aeruginosa*, así como su inocuidad en ratones. La metodología empleada fue mediante la técnica de difusión en agar, previa obtención de los mismos por filtración del caldo Trypticase Soya inoculado con la cepa de referencia ACTI 27853. Las cepas a ensayar fueron *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* aisladas a partir de leche de bovinos con mastitis resistentes a los tratamientos convencionales. La inocuidad en ratones se determinó comparando dos grupos de 20 animales de igual peso y edad, no registrándose diferencias significativas en el aumento de peso entre el grupo inoculado con el filtrado de cultivo y el grupo control (Test de Student $p=0,84$). Se determinó la acción inhibitoria *in vivo*, inoculando en ratones la dosis letal y la dosis reactiva para las cepas de *S. agalactiae* y *S. aureus* respectivamente. El porcentaje de mortalidad y de morbilidad de los animales inoculados con el filtrado fue del 20%, mientras que el grupo control fue del 80%. Los resultados demostraron que los productos metabólicos de *Pseudomona aeruginosa* impiden la proliferación de *S. aureus* y *S. agalactiae* tanto *in vivo* como *in vitro*, además de ser inocuos

para los ratones en la dosis ensayada. La conclusión que llegaron fue que los metabolitos de *pseudomonas aeruginosa* inhibe el desarrollo de *S. aureus* y *S. agalactiae* tanto *in vivo* como *in vitro*, de mostraron además ser inocuos, para el modelo animal seleccionado en las condiciones del ensayo. También por lo expuesto es posible su aplicación en la terapia de infecciones a estos microorganismos resistentes a tratamientos convencionales.⁽⁷⁾

Concepción. *et.al.* (2009): Realizaron un estudio experimental titulado “Susceptibilidad *in vitro* de una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a diferentes extractos vegetales”. El objetivo de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad de dos cepas de *S. Aureus*, una hospitalaria, y la otra de referencia (ATCC 25923), a 10 extractos vegetales y dos aceites esenciales. En la metodología, evaluaron extractos alcohólicos e hidroalcohólicos de: perejil (*Petroselinum sativum*), ruda (*Rutagraveolens*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y gobernadora (*Larrea tridentata*); y los aceites esenciales de clavo (*Syzygium aromaticum*) y orégano (*Lippia graveolens*), determinando las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) mediante el método de macrodilución. Los resultados mostraron que no existió diferencia en las CMI (2.77mg mL⁻¹) en los extractos vegetales, tanto alcohólicos como hidroalcohólicos en las dos cepas, mientras que los aceites esenciales inhibieron el crecimiento bacteriano a CMI inferiores a las de los extractos alcohólicos e hidroalcohólicos de clavo (1.38mgmL⁻¹) y orégano (0.17mg mL⁻¹) para la cepa hospitalaria, y clavo (0.34mg mL⁻¹) y orégano (0.17 mg mL⁻¹) para la cepa de referencia. En conclusión el presente estudio tiene una aplicación potencial como antibacterianos por lo que se sugiere medir sus propiedades farmacéuticas para establecer su uso como agentes terapéuticos.⁽⁸⁾

Expósito, *et.al.* (2017): Realizaron un estudio experimental titulado “Acción antimicrobiana *in vitro* de extractos hidroalcohólicos de frutos y hojas de la especie *Ficus carica* L.” El Objetivo fue determinar la acción antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de frutos y hojas de la especie *Ficus carica* L.

El Método utilizado fue un estudio experimental de la planta *Ficus carica* L, en el período comprendido de febrero de 2015 a septiembre de 2016. Se utilizó como materia prima material vegetal fresco de las hojas, frutos verdes y maduros. Se determinó la actividad antimicrobiana mediante extractos hidroalcohólicos, que se enfrentaron a cuatro microorganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Cándida albicans*. Se determinó la concentración mínima inhibitoria a través del método de macrodilución en caldo. Los resultados constatan que los extractos puros del fruto verde, fruto maduro y hojas mostraron crecimiento microbiano. En la dilución 1:2 no existió crecimiento bacteriano de los gérmenes estudiados sin embargo, la dilución 1:4 fue sensible a los extractos de fruto verde y fruto maduro para la *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*, específicamente para el fruto verde a la dilución 1:4 hubo inhibición del crecimiento del *Staphylococcus aureus*, en la 1:8 la *Pseudomona aeruginosa* y en ambas diluciones la *Cándida albicans*. Conclusiones la planta de la especie *Ficus carica* L presenta sustancias bioactivas con efectividad antimicrobiana en extractos hidroalcohólicos de frutos y hojas. ⁽⁹⁾

Nidia, et.al. (2008): Realizaron un estudio experimental titulado “Actividad antimicrobiana de *Waltheria indica* y *Acacia farnesiana*”. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos acuosos y etanólicos preparados con las raíces de ambas plantas. Metodología usada para estos extractos, se les determinó el rendimiento de sólidos solubles totales y se les realizó el análisis fitoquímico general. La actividad antimicrobiana se evaluó frente a 25 cultivos bacterianos, dos cepas de hongos filamentosos y 13 cepas de siete especies de levaduras del género *Cándida*. Resultados en ambas plantas, los extractos etanólicos tuvieron mayor actividad que los acuosos. Los extractos etanólicos de estas especies vegetales afectaron el crecimiento de siete cepas bacterianas, lo cual correspondió al 28 % de los cultivos evaluados. Esta actividad fue bacteriostática y bactericida para los dos extractos, a los que se les determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibitoria (CMI) y Bactericida (CMB) frente a los cultivos sensibles. En conclusión Solo se detectó

actividad antifúngica por el extracto de *W.* indica sobre la cepa de *C. utilis*. La acción sobre bacterias enteropatógenas *in vitro* valida el uso de estas plantas en medicina tradicional y reafirma la necesidad de estudios toxicológicos para asegurar la inocuidad de su uso ⁽¹⁰⁾

Román. et.al. (2013): Realizaron un estudio experimental titulado “Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a cepas bacterianas multiresistentes”. El objetivo fue Evaluar la actividad antimicrobiana de extractos metanólicos y diclorometánicos de seis plantas contra bacterias multiresistentes. Métodos, los extractos fueron obtenidos de las hojas de cada planta estudiada por el método de extracción con solventes (metanol y diclorometano) y secados en rotaevaporador. Para evaluar la actividad antimicrobiana se utilizó la técnica de dilución en agar (adaptada del EUCAST) para determinar la CMI probando cinco diluciones (10, 5, 2, 1 y 0,5 mg/mL) contra seis cepas bacterianas con resistencia múltiple a los antibióticos. Todos los ensayos se realizaron por duplicado y se incubaron 24 horas a 37°C. Resultados de los doce extractos de plantas analizadas, dos mostraron efecto inhibitorio. Los extractos de *Helichrysum italicum* inhibieron las bacterias grampositivas en estudio (*S. aureus* ATCC 43300 y *E. faecalis* ATCC 51299). La CMI con el extracto metanólico para las dos cepas mencionadas anteriormente fue 1,0 mg/ml y con el extracto diclorometánico fue de 0,5 mg/ml. En conclusión el estudio de las propiedades medicinales de las plantas ha generado resultados que han aportado soluciones a problemáticas tan importantes como la malaria. En este caso el tamizaje de seis especies vegetales dio como resultado el hallazgo de un ejemplar cuyos extractos metanólicos y diclorometánicos inhiben en bajas concentraciones dos cepas bacterianas multiresistentes. Esto representa una nueva fuente potencial de moléculas que podrían ser utilizadas como alternativa en la lucha contra la resistencia bacteriana. ⁽¹¹⁾

2.2. Bases teóricas y/o legales

2.2.1. Descripción general *Jungia rugosa* Less (matico serrano)

La Sierra de nuestro país posee una variedad de flora con diversas propiedades medicinales, de alto beneficio para la salud de la población. Dentro de estas plantas se encuentra *Jungia rugosa* Less (matico serrano), especie que crece en las zonas andinas de nuestro país, cuyas hojas son utilizadas principalmente como desinflamante y cicatrizante. En el Perú es conocida popularmente como, matico serrano, matico de puna, guayombo y tricache.⁽¹²⁾



Figura N° 01: *Jungia rugosa* Less

Fuente: propia

- **Distribución taxonómica**

División: Magnoliopsida

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Jungia*

Especie: *Jungia rugosa* Less.

- **Origen de “*Jungia rugosa* L.”**

No se cuenta con mucha información sobre *Jungia rugosa* Less. Según literatura científica, su nombre fue aceptado en la comunidad botánica en 1830, su récord consta en los datos TICA (The International Compositae Alliance) (record 436A8FFB-1316-47E0-9E5A-1CDF1024CDCF). Fue descrita por Christian Friedrich Lessing médico y botánico alemán en 1830.
(13) (14)

- **Descripción botánica**

Jungia rugosa less es un arbusto de la familia de las asteráceas, crece en climas frío y húmedos entre altitudes de 2900 a 3800 metros sobre el nivel del mar. ⁽³⁾

Raíz: Su sistema radicular es abundante y poco profunda, la raíz principal se ramifica en raíces primarias y estas a su vez se vuelven a subdividirse.

Tallo: Son leñosos, duros, verdes sin estrías longitudinales, trepadoras y largas. La longitud del tallo puede alcanzar hasta 0.8 a 2 m de altura, siendo delgados y lisos.

Hojas: Miden de 3 X 5 cm hasta 10 X 12 cm, las hojas están alternadas y cubiertas de vellosidades, sus lóbulos son muy marcados pudiendo tener hasta ocho. Presenta una marcada nervadura antiparalela, y son pecioladas. El haz presenta una coloración verde intensa y de aspecto rugoso. El envés presenta en color verde pálido.

Flores: Se encuentra en una cápsula verde, y son de color blanquecinos.

Semilla: Posee semillas de color negro, muy pequeñas. ⁽¹²⁾

- **Hábitat**

Jungia rugosa Less se encuentra ampliamente distribuida a lo largo de los andes de Ecuador, Perú y Bolivia. Se la puede localizar en lugares cuyas altitudes varían entre 2900- 3800 metros sobre el nivel del mar. ⁽¹²⁾

- **Propiedades medicinales**

Esta planta nativa tiene utilidad terapéutica tradicional muy variada, la parte utilizada son las hojas, como infusión en casos de gastritis, úlceras gástricas, tratamiento de diversas afecciones bronquiales (expectorante y antitusígeno), como emplasto para el tratamiento de heridas, prevención de hemorragia y golpes, para el caso de lavados vaginales e inflamación de ovarios se asocia con otras plantas medicinales entre ellas la cola de caballo, salvia y ortiga blanca. ⁽¹⁵⁾ ⁽¹⁶⁾

- **Actividad antibacteriana**

La actividad antibacteriana es una propiedad de los organismos vegetales y animales, que por su composición química ha demostrado que pueden combatir los microorganismos que están en el ambiente, sin dañar el objeto, ambiente u organismo que las porta. ⁽¹⁷⁾

2.2.2. *Staphylococcus aureus*

El nombre de *Staphylococcus*, que significa racimo de uvas, son los responsables de la inflamación y supuración. *Staphylococcus aureus* es una bacteria anaerobia facultativa, Gram positiva en forma de cocos, productora de coagulasa y catalasa. Es un importante patógeno humano, porque presenta varios factores de virulencia entre ellos una capsula mucoide, que incrementa su capacidad de adherencia y refuerza el efecto antifagocítico, causante de diversas infecciones agudas, piogénicas y superficiales en la población, así como infecciones hospitalarias entre otras. Se encuentra en todo el mundo presenta capacidad de adaptación y supervivencia, lo que conlleva al aumento progresivo de resistencia a los fármacos ⁽¹⁸⁾ ⁽¹⁹⁾

- **Taxonomía**

Reino: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: Staphylococcus

Especie: *Staphylococcus aureus*

- **Hábitat**

Staphylococcus aureus se encuentra normalmente en la zona nasofaríngea y en zonas húmedas como pliegues inguinales y axilas. ⁽²⁰⁾

Cerca del 30% de la población es portador permanente, el 50% portador intermitente y el 20% no es colonizado. Las poblaciones que pueden tener una mayor tasa de colonización son el personal de salud, los pacientes en hemodiálisis, diabéticos, adictos a drogas intravenosas, etc. ⁽²⁰⁾

Por otro lado, *Staphylococcus aureus*, a pesar de tener numerosos factores de virulencia, puede convivir con el huésped humano formando parte de su flora normal sin causar ningún daño. ⁽²⁰⁾

- **Morfología**

Staphylococcus aureus presenta forma de Cocos es Gram positivo de 0.8 a 1 micrómetro de diámetro, con tendencia a agruparse en racimos. No poseen cápsula aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula.

Es aerobio y anaerobio facultativo por lo que puede crecer tanto en una atmósfera con o sin oxígeno. No presenta movilidad es capaz de crecer hasta con un 10 % de sal común. Por esto puede crecer en el agua del mar.

^{(20) (21)}

- **Patogenia**

Cualquier enfermedad infecciosa es el resultado de la interacción entre el microorganismo causal y el huésped. *Staphylococcus aureus* presenta un amplio arsenal contra las defensas del hospedero, puede comportarse como un organismo comensal y como un agente patógeno.

La mucosa nasal es el principal sitio de colonización en los seres humanos. Se ha estimado que aproximadamente el 30% de la población general es portadora de esta bacteria. ^{(16) (17)}

Staphylococcus aureus produce infecciones de dos maneras: ⁽¹⁷⁾

a.- En forma directa, por invasión y posterior destrucción tisular local (proceso supurado), o luego de haberse diseminado por vía sanguínea.

b.- A través de efectos de toxinas.

- **Manifestaciones clínicas**

Staphylococcus aureus es un microorganismo causante de diversos procesos infecciosos, adquiridas en la comunidad y/o a nivel hospitalario, que van desde infecciones cutáneas hasta infecciones sistémicas mortales.

⁽¹⁸⁾ ⁽²²⁾

Tabla 01: Manifestaciones clínicas.

Lugar de Infección	Cuadro Clínico	Localización de Lesiones
En piel y mucosas	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forunculosis ▪ Impétigo ▪ Paroniquia ▪ Celulitis 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Epidermis (superficial) ▪ Epidermis (superficial) ▪ Epidermis y dermis ▪ Tejido blando junto a las uñas
Generalizadas y en vísceras	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bacteriemia ▪ Osteomielitis ▪ Artritis ▪ Endocarditis ▪ Neumonía ▪ Meningitis 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Torrente circulatorio ▪ Hueso (extremidades inferiores) ▪ Articulaciones ▪ Endocardio ▪ Pulmón ▪ Meninges
Por acción toxica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Síndrome de la piel escaldada ▪ Síndrome de shock toxico ▪ Intoxicaciones alimentarias 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Base de epidermis ▪ Difuso (piel, riñones, musculo) ▪ Aparato digestivo

Fuente: Lowy, F⁽¹⁸⁾

2.2.3. Dicloxacilina. Descripción y farmacocinética

- **Descripción**

Es un antibiótico de segunda generación que se usa para tratar infecciones causadas por bacterias. Este fármaco entró en uso médico aprobado en 1968 en los Estados Unidos y hoy en día es usado mundialmente para tratar muchas infecciones comunes.

Es un antibiótico que se encuentra en la clase de medicamentos llamados penicilinas, su actividad farmacológica se debe a que detiene el crecimiento de las bacterias (bacteriostática) o matándolas (bactericida), en un mecanismo que se conoce como antibiosis. ⁽²³⁾

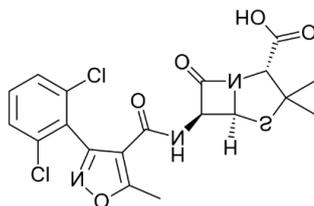


Figura N° 02: Estructura química de la Dicloxacilina

Fuente: Ministerio de salud ⁽²³⁾

- **Farmacocinética**

Presenta una buena absorción en TGI, pero disminuye su absorción en presencia de alimentos. Cerca del 95%-99% se une a proteína plasmática, con un tiempo de vida media de 0.6 a 1 h, prolongándose en neonatos. Se distribuye en tejidos y fluidos corporales. Se metaboliza parcialmente. Cerca del 60% se excreta en forma inalterada por filtración glomerular, secreción tubular, y sólo una pequeña cantidad en heces. La concentración se reduce en paciente con fibrosis quística.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general:

El extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L., (matico serrano) posee efecto antibacteriano en cepas de *Staphylococcus aureus*.

2.3.2. Hipótesis específicas:

1. Existe metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L., (matico serrano) responsables del efecto antibacteriano sobre cepa de *Staphylococcus aureus*.

2. Existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L., (matico serrano) con efecto antibacteriano sobre cepa de *Staphylococcus aureus*.
3. Existe efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L., (matico Serrano) comparado con el fármaco de Dicloxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

- **Variables**

Variable independiente: Extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano).

Variable dependiente: Efecto antibacteriano frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.

- **Tabla de operacionalización de variables**

Tabla 02: Operacionalización de Variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
V. Independiente Extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> L. (matico serrano)	Tamizaje fitoquímico	Alcaloides Flavonoides Saponinas Taninos Compuestos fenólicos Quinonas
	Cromatografía en Capa fina	Alcaloides Flavonoides
	Concentraciones de <i>Jungia rugosa</i> L.	Concentraciones al 40%,60% y 80%

<p style="text-align: center;">V. Dependiente</p> <p>Efecto antibacteriano frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Método de Difusión en Agar (Excavación en placa)</p>	<p>Medición de los diámetros de inhibición de los Halos en mm referidos según escala de Duraffourd</p> <p>Nula (-): diámetro inferior a 8 mm.</p> <p>Sensible (+): diámetro de 8 a 14 mm.</p> <p>Muy Sensible (++) : diámetro de 14 a 20 mm.</p> <p>Sumamente Sensible (+++): diámetro superior a 20 mm.</p>
---	---	--

Fuente: Elaboración propia

2.4. Definición de términos básicos

- **Antibacteriano.** Dícese del fármaco capaz de inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado. ⁽²⁴⁾
- **ATCC.** American Type Culture Collection. Es una organización sin fines de lucro que recolecta, almacena y distribuye microorganismos de referencia estándar, líneas celulares y otros materiales para investigación y desarrollo. ⁽¹⁹⁾
- **Bacteriostático.** Un efecto bacteriostático es aquel que aunque no produce la muerte a una bacteria. Impide su reproducción; la bacteria muere sin dejar descendencia. Un efecto bacteriostático está producido por sustancias bacteriostáticas. Estas sustancias son secretadas por los organismos como medios defensivos contra las bacterias. ⁽¹⁸⁾
- **Cepa.** Cultivo puro formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento. ⁽¹⁸⁾

- **Extracto.** Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos, a menudo se usa etanol o agua como solventes. Los extractos pueden comercializarse como tinturas o en forma de polvo. ⁽¹⁶⁾
- **Efecto farmacológico.** Cualquier cambio producido en el organismo después de la administración de dosis normales de un fármaco o químico. Puede ser de dos tipos: principal o beneficioso e indeseables o adversos. ⁽²⁵⁾
- **Efecto antibacteriano.** Capacidad de matar o destruir o inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena. ⁽²⁵⁾
- **Fundamento químico de marchas fitoquímicas.** El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. ⁽²⁶⁾
- **Metabolitos primarios.** Son todos aquellos que intervienen directamente en los procesos químicos en la supervivencia, crecimiento y reproducción de las plantas. Estos metabolitos son muy importantes para la vida vegetal: proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y hormonas ⁽²⁶⁾
- **Resistencia antibiótica.** Es la capacidad de un microorganismo para resistir los efectos de un antibiótico. ⁽²⁷⁾
- **Tamizaje fitoquímico.** Es la extracción de metabolitos de la planta a través de solventes apropiados y la aplicación procedimiento adecuados de: reacción de color y precipitación. Los resultados del

tamizaje fitoquímico constituyen únicamente en una orientación y debe de interpretarse en conjunto con los resultados del Screening farmacológico.

(26)

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

El tipo de estudio es experimental.

El diseño de estudio empleado es experimental mixto, porque une ambos tipos de investigación cualitativa y cuantitativa para lograr un mayor entendimiento del estudio.

Transversal: el estudio se realizó en un tiempo determinado, siendo así que las variables fueron observadas en un solo momento después de un tiempo de 24 horas de cultivo.

In Vitro: esta investigación se realizó con parámetros controlados establecidos por normas, es así que los medios de cultivo han servido para el desarrollo de las bacterias y estas se manejaron de manera intencional para la investigación propuesta.

3.2. Población y muestra

Población botánica: La población fue constituida por las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano) que se encuentra en un área de 4m²; provenientes del centro poblado Matacoto, provincia Yungay, departamento de Ancash.

Población microbiológica: La población microbiológica fue constituida por las bacterias *Staphylococcus aureus*.

Muestra botánica: La muestra fue constituida por 500 g de las hojas de hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano).

Muestra microbiológica: La muestras fue constituidas por las colonias de *Staphylococcus aureus* ATCC6538.

3.3. Equipos, materiales y reactivos

- **Equipos:**
 - Balanza gramera
 - Balanza analítica.
 - Estufa.
 - Rotavapor.
 - Plancha de calentamiento.
 - Luz UV 254 y 366 nm.
 - Autoclave.
 - Incubadora.
 - Vernier.

- **Materiales:**
 - Material estéril de Laboratorio
 - Matraz erlenmeyer 250 y 500 mL
 - Embudo de vidrio
 - Tubos de ensayo
 - Pipetas
 - Fiolas de 50 mL
 - Pera de bromo de 250 mL
 - Estándar de quercetina
 - Estándar de cafeína
 - Pipeta de 25 mL

- Sacabocado
 - Placas petri
 - Micropipetas de 100 uL
 - Tubos de ensayo de 15 x 150
 - Mechero
 - Asa de Kolle
- **Reactivos:**
 - 2,4 DNPH
 - Wagner
 - Dragendorff
 - Reineckato
 - Shinoda (Limaduras de magnesio más HCl)
 - Cloruro férrico
 - Gelatina al 1%
 - Hidróxido de sodio al 5% (reacción de Bortranger)
 - Ninhidrina
 - Fehling A y B
 - Lugol
 - Alcohol (OH)de 96°C
 - Metanol (MeOH)
 - Cloroformo (CHCl₃)
 - Agua destilada
 - Isopropanol (C₃H₈O)
 - Tricloruro de Aluminio al 2%
 - Metanol : Agua (25:75)
 - BAW (Butanol : Agua : AAG) (4:3:1)

- Ácido sulfúrico 2 N
 - Agar Soya Trypticasa (TSA)
 - Solución salina fisiológica
 - Caldo Tioglicolato
 - Dimetil sulfoxido (DMSO)
 - Control Positivo “Dicloxacilina”
- **Material biológico:** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

3.4. Procedimiento experimental

La muestra de las hojas de *Jungia rugosa*. L (matico serrano) fue adquirida en el departamento de Ancash, provincia de Yungay en la fecha 13 de enero 2018, para poder trabajar con las hojas; se llevó al museo de historia natural en la Universidad Mayor de San Marcos, para el reconocimiento taxonómico de nuestra planta.

A. Secado de las hojas de *Jungia rugosa* Less (Matico serrano)

Para poder trabajar con las hojas de *Jungia rugosa*. L (matico serrano) se seleccionó y se eliminó las impurezas de las hojas con agua destilada, luego se colocan en papel kraft, para ser llevada a la estufa a una temperatura de 40° a 45°c°, la temperatura es para no alterar los metabolitos.

B. Extracción etanólica de las hojas de *Jungia rugosa* Less (Matico serrano)

Una vez secas las hojas se llevó a molienda y luego se pesó en la balanza analítica la cual pesó 500 gr. Se adicionó un promedio de 1000 ml de etanol, luego se procedió a envasar y rotular la muestra en un frasco ámbar y dejarlo a maceración por 7 días, asimismo se agito con una bagueta cada 3 a 4 horas, para tener una buena concentración de principios activos, después del tiempo estimado se filtró el extracto de *Jungia rugosa*. L (matico serrano) con papel whattman N° 40, el volumen total obtenido de extracto etanolico de *Jungia rugosa*. L (matico serrano) fue de 450 ml. El extracto que obtuvimos servirá para los análisis posteriores. Ver (anexo 5)

C. Extracto seco de las hojas de *Jungia rugosa* Less (Matico serrano)

Para la obtención del extracto seco, el líquido filtrado de *Jungia rugosa*. L (matico serrano) se pasó al rotavapor, equipo que sirvió para la concentración de la muestra y la recolección del alcohol utilizado. Este trabajo se realizó a temperatura controlada de 50°C; cuando se observó que la muestra fue reducida a un aproximado de 250 ml se depositó en crisoles y fue llevado a la estufa a 40°C por 72 horas al final se obtuvo un total de 120 g de extracto seco de *Jungia rugosa*. L (matico serrano). La muestra se recolectó en un envase de color ámbar protegido de la luz y se guardó a temperatura de 2 a 8 °C hasta su utilización. A su vez se puede corroborar el rendimiento del proceso de extracción del extracto etanólico de *Jungia rugosa*. Ver (anexo N° 6 y 7)

D. Tamizaje fitoquímico

Para la realización del tamizaje fitoquímico se procedió, según el estudio de Olga Look de Ugas ⁽²⁶⁾: determinación de metabolitos mediante diversos tipos de ensayos.

Estos ensayos se verificaron a partir de la muestra seca (siendo reconstituida o líquida), según sea el disolvente de elección inicial. Estos ensayos son de tipo cualitativo que permitieron la identificación de la droga a estudiar.

Las pruebas para el tamizaje fitoquímico consistieron en reacciones que se evidenciaron en su forma coloreada, de precipitación, fluorescencia y microsublimación. Ver (anexo 8).

- **Determinación de metabolitos primarios**

- Prueba para azúcares reductores (carbohidratos)**

- Fehling A y B**

- Para el reconocimiento de monosacáridos se tomó 1 ml de solución de extracto de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) se añadió 0.5ml de fehling A y 0.5ml de fehling B, llevamos el tubo de ensayo con la muestra preparada

a calor por 1 min aproximadamente, logrando la presencia de un precipitado color naranja ladrillo, que será positivo para identificación de azúcares reductores.

Prueba para almidón

Lugol

Para el reconocimiento de almidón, se adicionó a un tubo de ensayo 1 ml de solución de extracto de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) y 3 gotas de lugol, para ver si hay presencia de una coloración oscura que será positiva para el reconocimiento de almidón.

Prueba para Cetonas y aldehídos

2,4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH)

Para el reconocimiento de cetonas y aldehídos, se adicionó a un tubo de ensayo 1ml de extracto de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) y 3 gotas del 2,4-DNPH, para ver si hay presencia de la formación de un anillo rojizo que será positiva para reconocimiento de cetonas.

- **Metabolitos Secundarios**

Prueba para alcaloides

Para la identificación de alcaloides se usó 3 tubos de ensayo y se adicionó el extracto de *Jungia rugosa* Less (Matico serrano) 1 ml y se adicionó a cada uno de ellos los reactivos tales como (Dragendorff, Reineckato y Wagner) para la identificación de alcaloides.

Reactivo de Wagner.- (yodo-yoduro de potasio), presenta un color marrón cuando se le agrega 5 gotas.

Reactivo de Dragendorff.- (Yoduro de bismuto y potasio), presenta un color rojo a naranja cuando se le agrega 5 gotas.

Reactivo de Reineckato.- $(\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]2\text{H}_2\text{O})$, presenta un precipitado color rosa cuando se le agrega 5 gotas.

Prueba de flavonoides y compuestos fenólicos

Para la identificación de flavonoides y compuestos fenólicos, se tomó la muestra de extracto de *Jungia rugosa* Less (matico serrano), se usó una gradilla con 4 tubos de ensayos en el cual a cada uno de los tubos se adicionó 1ml de extracto de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) preparada anteriormente a esto se adicionó los reactivos tales como (Shinoda, cloruro férrico, gelatina al 1% e hidróxido de sodio al 5%).

Reactivo de Shinoda. 1 ml de extracto más (Limaduras de magnesio + HCl concentrado) da color rojo magenta.

Reactivo de cloruro férrico. Si está en la forma de cloruro férrico disuelto en agua puede dar color verde, negra o azul si se le agrega 3 gotas.

Reactivo de gelatina al 1%. (Gelatina + cloruro de sodio), si presenta un color blanco como precipitado cuando se le agrega de 3 gotas, es una prueba para taninos.

Reactivo de hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger). Si presenta un color rojo cuando se le agrega de 3 a 5 gotas, nos da el indicio de la presencia de Naftoquinonas y Antraquinonas.

Tabla 03: Marcha fitoquímica

N	Metabolitos	Reactivo de identificación	Reacción Positiva
1	Alcaloides	Wagner	Precipitado marrón
		Dragendorff	Precipitado rojo o naranja
		Reineckato	Color floculante color rosa
2	Flavonoides	Shinoda	Color rojo
3	Compuestos Fenólicos	Cloruro férrico	Color negro
4	Taninos	Gelatina al 1%	Precipitado blanco
5	Naftoquinonas Antraquinonas	Reacción de Bortranger	Color rojo
6	Saponinas	Formación de espuma	Estable por 15 minutos
7.	Aminoácidos	Ninhidrina	Color violáceo
8.	Carbohidratos (azúcares reductores)	Fehling A y B	Precipitado naranja ladrillo
9	Almidón	Lugol	Precipitado naranja ladrillo

10	Aldehídos y cetonas	2,4 DNPH	Anaranjado rojizo
----	---------------------	----------	-------------------

Fuente: Olga Look de Ugas⁽²⁶⁾:

E. Prueba de solubilidad

Para la realización de la prueba se contó con el extracto seco de *Jungia rugosa* (Matico serrano), se tomó 0.5 gr de extracto seco y se colocó en la placa de toques; se añadió los reactivos como (etanol, metanol, Cloroformo, Isopropanol y agua) 1 mL. La prueba nos mostró la miscibilidad del soluto con el solvente.

Tabla
Prueba de solubilidad
diferentes solventes

Nº MUESTRA	SOLVENTES (1 ml)
01	Etanol
02	Metanol
03	Coroformo
04	Agua
05	Isopropanol

04.
en

Fuente: Elaboración propia

F. Prueba de cromatografía en capa fina (CCF)

La prueba de cromatografía en capa fina es usada ampliamente para la determinación cualitativa de metabolitos, también esta técnica nos permite comparar las intensidades de las manchas observadas con los estándares adecuados. Ver (Anexo 9)

Para la detección de las manchas se utiliza una luz de onda corta a 254 nm y una luz de onda larga a 365 nm para visualizar los colores dejados.

Cromatografía en capa fina para alcaloides

Esta prueba cromatográfica se llevó a cabo usando como fase estacionaria a la silica gel de la marca Merck y como fase móvil en proporciones especificadas de 25:75, para metanol y agua respectivamente; es en esta proporción donde se vio la elución de los metabolitos que pueda tener *Jungia rugosa* (matico serrano).

Se usó el estándar de Cafeína como comparativo de que la fase móvil es la indicada para dicho metabolito. La concentración de la Cafeína es de 10 mg/mL que se disolvió en metanol.

Para dicho ensayo se inyectó una muestra de 5 µl, tanto para el estándar como para la muestra de *Jungia rugosa* (matico serrano).

Una vez terminada la elución de todos los metabolitos existentes en la muestra, se retiró la placa cromatográfica y se esperó hasta la evaporación del solvente; se usó la plancha de calentamiento para ayudar con la evaporación, luego para la evidencia se roció ácido clorhídrico a una concentración del 2% y el revelador de Dragendorff.

Se consideró positivo al observar manchas de color naranja, tanto en el estándar como en la muestra de *Jungia rugosa* L (matico serrano).

Cromatografía en capa fina para flavonoides

Esta prueba cromatográfica se llevó a cabo usando como fase estacionaria a la silica gel de la marca Merck y como fase móvil en proporciones especificadas de 20:5:15 para butanol, ácido acético glacial y agua

respectivamente, es en esta proporción donde se ve la elución de los metabolitos que pudiera tener el matico serrano.

Se usó el estándar de Quercetina como comparativo de que la fase móvil es la indicada para dicho metabolito. La concentración de Quercetina es de 10 mg/mL que se disolvió en metanol.

Para dicho ensayo se inyectó una muestra de 5 µl, tanto para el estándar como para muestra de *Jungia rugosa* (matico serrano).

Una vez terminada la elución de todos los metabolitos existentes en la muestra como la de Quercetina, se retiró la placa y se esperó hasta la evaporación del solvente; este proceso se facilitó usando la plancha de calentamiento, se roció como revelador el reactivo de tricloruro de aluminio ácido clorhídrico a una concentración del 2%.

Se consideró positivo al observar manchas de color amarillo, tanto en el estándar como la muestra de *Jungia rugosa* (matico serrano)

G. Método de difusión en agar (excavación en placa) del extracto etanólico de *Jungia rugosa* (matico serrano) frente a *Staphylococcus aureus*

La determinación experimental de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) en concentraciones de (40%, 60% y 80%), frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC6538, se empleando el método de difusión en agar (excavación en placa) para luego evaluar el diámetro del halo que pudiese generar.

Considerando como controles de susceptibilidades un blanco como el Dimetil sulfoxido (DMSO) para descartar que la actividad inhibitoria fuese por el solvente del extracto etanólico y un control de actividad antibacteriana como la dicloxacilina de 500 mg. Ver (Anexo 12 y 13)

Preparación del medio nutritivo Agar Soya Tripticasa (TSA)

La metodología de preparación del medio de cultivo Agar Soya Tripticasa se encuentra relacionada según la marca empleada.

Para este estudio se empleó el medio de marca Merck cuya forma de preparación es 40 g del medio Agar Soya Tripticasa por cada 1000 ml de

agua destilada, proceder con la homogenización en baño maría hasta lograr la disolución completa.

Luego se llevó a la autoclave para su esterilización respectiva a 121°C y 15 libras de presión por un periodo de 15 minutos.

Terminado el tiempo el medio se retiró de la autoclave dejando reposar hasta obtener una temperatura aproximada de 45 a 50°C. ⁽²⁸⁾ ver (Anexo 14)

Reactivación del cultivos de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC6538

Para este ensayo se utilizó 2 placas petri que contengan 25 ml de Agar Soya Trypticasa (TSA) previamente elaborada, luego se abre el dispositivo de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC6538 y se siembra con un hisopo a cada una de las placas de Agar Soya Trypticasa (TSA) por un tiempo de 24 horas y a 37 °C de temperatura, pasado el tiempo estimado se verá el crecimiento bacteriano de las cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC6538 Ver (Anexo N° 10)

Preparación y estandarización de los inóculos de cepa *staphylococcus aureus* ATCC6538

Para la estandarización de las colonias de cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 se usó el método de dilución en Caldo tioglicolato, hasta obtener la turbidez equivalente al Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 UFC/mL).

Para la preparación del caldo tioglicolato, se tomó 15g de polvo nutritivo para diluirlo en 1L agua destilada, se mezcló y calentó hasta ebullición durante 1 min, se esterilizó en auto clave a 121°C durante 15 min para luego incubarlo a 37 °C por 24 h y a partir de este se realizó diluciones seguidas hasta obtener la turbidez equivalente al tubo N° 0,5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 UFC/mL). Ver (Anexo 11)

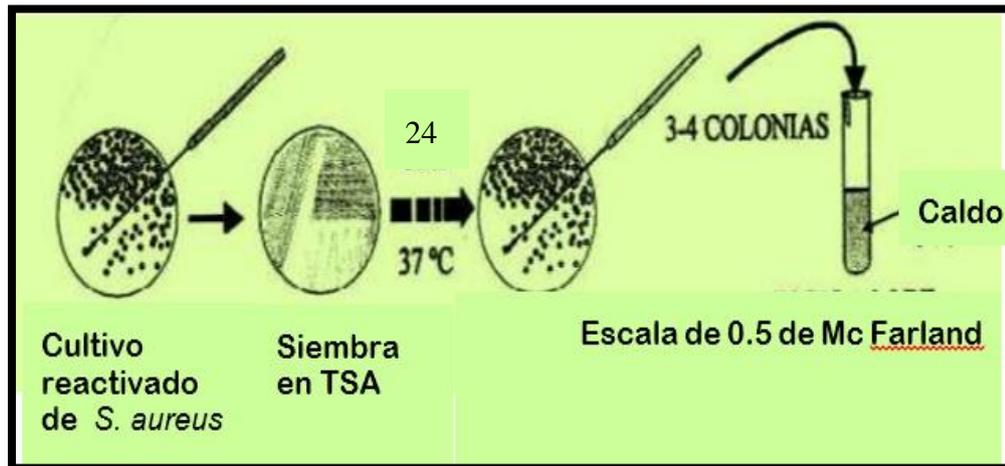


Figura N°3. Esquema de estandarización de *Staphylococcus aureus*
Fuente: Taroco⁽²⁹⁾

Determinación de la actividad antibacteriana

Para la determinación de la actividad antibacteriana, se preparó en un matraz 15g de TSA y se adicionó 375ml de agua destilada, esto se llevó al autoclave para su esterilización a 121c° y 15 libras de presión por 15 minutos, trascurrido el tiempo se retira del autoclave y se deja reposar hasta una temperatura entre 45 a 50c°.

Una vez logrado que el medio encuentre la temperatura esperada, se incorporó empleando la micropipeta un volumen de 100 µL del inóculo estandarizado de *Staphylococcus aureus* por cada 100 ml de agar preparado, homogenizando con movimientos circulares.

Empleando una pipeta de 25 ml depositamos el agar Soya Tripticasa que contiene el inóculo estandarizado de *Staphylococcus aureus* en las 15 placa Petri que serán trabajadas posteriormente, dejándolo solidificar por un lapso mínimo de 10 a 15 minutos a temperatura ambiente.

Para la inoculación del extracto etanólico de *Jungia rugosa* (matico serrano) (concentraciones de 40%, 60% y 80%), Dimetil Sulfoxido (DMSO) y Dicloxacilina se utilizó el método de excavación en placa.

A cada placa de agar TSA que contiene el inóculo estandarizado de *Staphylococcus aureus* se hicieron excavaciones en número de tres por

cada placa de 8mm de diámetro y 8 mm de profundidad empleando un sacabocado estéril, distribuidos de la siguiente manera:

Tabla 05. Efecto antibacteriano

GRUPOS (5 placas por grupo)	BLANCO	CONTROL POSITIVO	CONCENTRACIÓN DE EXTRACTO
N°1	DMSO	Dicloxacilina 150 mg/mL	Extracto etanólico de la <i>Jungia rugosa</i> Less "Matico Serrano" 40%
N°2	DMSO	Dicloxacilina 150 mg/mL	Extracto etanólico de la <i>Jungia rugosa</i> Less "Matico Serrano" 60%
N°3	DMSO	Dicloxacilina 150 mg/mL	Extracto etanólico de la <i>Jungia rugosa</i> Less "Matico Serrano" 80%

Fuente: Elaboración propia

Rotular todas las placas y proceder a incubar las placas a 37°C por un periodo de 24 horas, todas las pruebas se realizaron por quintuplicado.

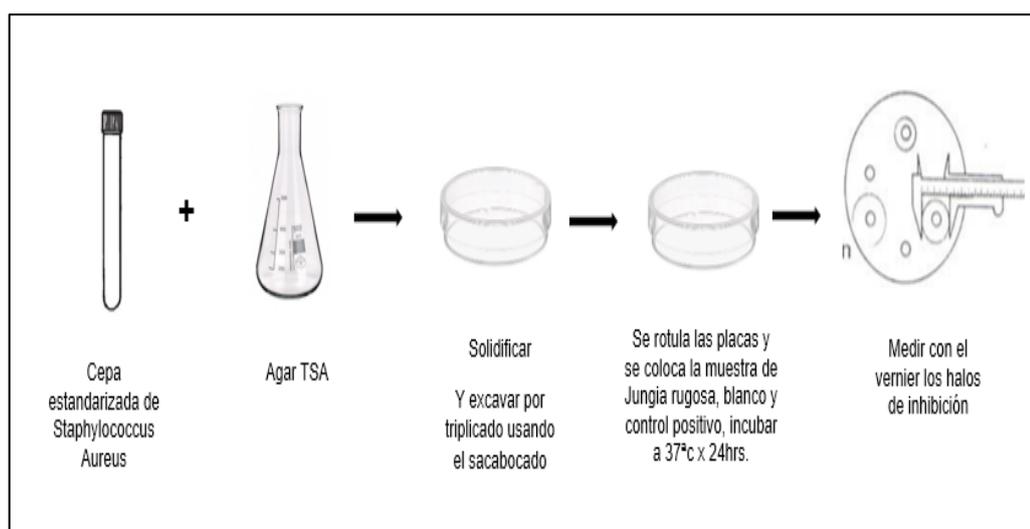


Figura N° 04. Esquema de la actividad antibacteriana

Fuente: elaboración propia

3.5. Procesamiento de datos

Para el análisis estadístico de los resultados se realizó lo siguiente:

Prueba de bondad y ajuste de Anderson y Darling.

Prueba paramétrica de T de 1 muestra o Wilcoxon.

Análisis de Varianza (ANOVA).

Prueba de Tukey

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Presentación

Los resultados en todas las pruebas realizadas se muestran en tablas y figuras para un mejor entendimiento de los objetivos planteados.

A. Resultados de marcha fitoquímica

El extracto etanólico de *Jungia rugosa* (Matico serrano) en la marcha fitoquímica evidenció la presencia de metabolitos, dando positivo para, alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos en mayor proporción, tal como se aprecia en la tabla 6.

N	Metabolitos	Reactivo de identificación	Reacción Positiva	Resultado
1	Alcaloides	Wagner	Precipitado marrón	(+++)
		Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	(++)
		Reineckato	Color floculante color rosa	(+++)
2	Flavonoides	Shinoda	Color rojo	(+++)
3	Compuestos Fenólicos	Cloruro férrico	Color negro	(+++)
4	Taninos	Gelatina al 1%	Precipitado blanco	(+++)
5	Naftoquinonas Antraquinonas	Reacción de Bortranger	Color rojo	(++)
6	Saponinas	Formación de espuma	Estable por 15 minutos	(-)
7.	Aminoácidos	Ninhidrina	Color violáceo	(++)
8.	Carbohidratos	Fehlin A y B	Precipitado naranja ladrillo	(++)
9	Almidón	Lugol	Azul - violeta	(-)
10	Aldehídos y cetonas	2,4 DNPH	Anaranjado rojizo	(+)

Tabla 06: Resultado de marcha fitoquímica de *Jungia rugosa* Less (matico serrano)

Leyenda: (-) nulo; (+) poco; (++) moderado; (+++) abundante.

Fuente: Elaboración propia

B. Resultado de prueba de solubilidad

Los resultados corresponden a la prueba de solubilidad de *Jungia rugosa* Less (Matico serrano), evidenció ser soluble en etanol 96° y metanol, poco soluble en agua; esto se debe a que la extracción fue en medio etanólico, insoluble en cloroformo e isopropanol, tal como se aprecia en la tabla 7.

Tabla 07: Resultado de prueba de solubilidad *Jungia rugosa* Less (Matico serrano)

N°	Solventes	Resultado
1.	Etanol 96°	++
2.	Metanol	++
3.	Cloroformo	-
4.	Agua	+
5.	Isopropanol	-

Leyenda: (-) insoluble, (+) poco soluble, (++) soluble.

Fuente: Elaboración propia

C. Prueba de cromatografía en capa fina

Se muestra la identificación positiva para alcaloides y flavonoides, mediante la cromatografía en capa fina, tal y como se aprecia en la tabla 8 y figura 5

Tabla 08: Prueba de cromatografía en capa fina *Jungia rugosa* Less (Matico serrano)

Metabolitos secundarios	Fase Móvil	Resultado
Flavonoides	Rvo. BAW (Butanol: Ácido acético glacial: Agua) (20:5:25)	Se evidencian manchas amarillas
Alcaloides	Metanol:Agua (25:75)	Se evidencian manchas anaranjadas

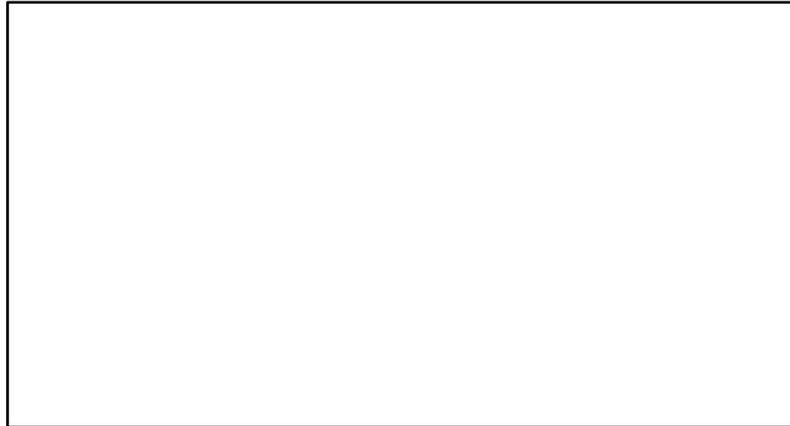


Figura N°05. Cromatografía en capa fina de Alcaloides y Flavonoides de *Jungia rugosa* Less (matico serrano)

Fuente: Elaboración propia

D. Resultado de la determinación del efecto antibacteriano por el método de difusión en agar (excavación en placa)

Se trabajó con cinco (5) grupos de análisis, siendo tres (3) concentraciones de *Jungia rugosa* L (40%, 60% y 80%), control positivo (Dicloxacilina) y control negativo (Dimetil sulfoxido), con cinco (5) repeticiones por cada grupo.

Los resultados fueron interpretados según la escala de Duraffourd, escala utilizada para determinar el efecto inhibitorio *in vitro* según diámetro de inhibición.⁽³⁰⁾

Tabla 09: Escala de Duraffourd

Escala	Diámetro de halos de inhibición
Sensibilidad Nula (-)	Inferior a 8 mm
Sensible media (+)	Entre 8 a 14 mm
Muy sensible (++)	Entre 14 a 20 mm
Sumamente sensible (+++)	Superior a 20 mm

Tabla 10: Resultado de medición de los halos de inhibición en mm a la concentración de 40% *Jungia rugosa* Less “matico serrano

N° DE ENSAYOS	Concentración del extracto de <i>Jungia rugosa</i> Less “matico serrano		
	Control negativo (-) DMSO 100 µL	Control positivo (+) Dicloxacilina 150 mg/mL 100 µL	Extracto etanólico de la <i>Jungia rugosa</i> Less “Matico Serrano” 40% 100 µL
1	0 mm	33.0 mm	24.3 mm
2	0 mm	32.6 mm	24.0 mm
3	0 mm	32.5 mm	23.9 mm
4	0 mm	32.8 mm	24.2 mm
5	0 mm	33.2 mm	24.0 mm
PROMEDIO	0 mm	32.82 mm	24.08 mm
DESVIACIÓN	0	0.29	0.16

En la tabla 10: Muestran las mediciones hechas por un Vernier dichas medidas dieron promedio de los halo inhibitorio de 24.08 mm para el extracto, un halo de 32.82 mm para el control positivo de dicloxacilina y un halo de 0.0 mm para el control negativo de Dimetil sulfoxido.

Tabla 11: Resultado de medición de los halos de inhibición en mm a la concentración de 60% *Jungia rugosa* Less “matico serrano

N° DE ENSAYOS	Concentración del extracto de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano)		
	Control negativo (-) DMSO 100 µL	Control positivo (+) Dicloxacilina 150 mg/mL 100 µL	Extracto etanólico de la <i>Jungia rugosa</i> Less “Matico Serrano” 60% 100 µL
1	0 mm	32.7 mm	26.0 mm
2	0 mm	33.1 mm	26.2 mm
3	0 mm	32.9 mm	25.9 mm
4	0 mm	33.0 mm	25.8 mm
5	0 mm	32.9 mm	25.8 mm
PROMEDIO	0 mm	32.92 mm	25.94 mm
DESVIACION	0 mm	0.15	0.17

En la tabla 11: Muestran las mediciones hechas por un Vernier dichas medidas dieron un promedio de halo inhibitorio de 25.94 mm para el extracto, un halo de 32.92 mm para el control positivo de dicloxacilina y un halo de 0.0 mm para el control negativo de Dimetil sulfoxido

Tabla 12: Resultado de medición de los halos de inhibición en mm a la concentración de 80% *Jungia rugosa* Less (matico serrano)

N° DE ENSAYOS	Concentración del extracto de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano)		
	Control negativo (-) DMSO 100 µL	Control positivo (+) Dicloxacilina 150 mg/mL 100 µL	Extracto etanólico de la <i>Jungia rugosa</i> Less “Matico Serrano” 80% 100 µL
1	0 mm	33.0 mm	29.0 mm
2	0 mm	32.8 mm	28.9 mm
3	0 mm	32.7 mm	28.9 mm
4	0 mm	33.2 mm	29.1 mm
5	0 mm	33.0 mm	29.0 mm
PROMEDIO	0 mm	32.94 mm	28.98 mm
DESVIACION	0	0.19	0.08

En la tabla 12: Muestran las mediciones hechas por un Vernier, dichas medidas dieron un promedio de halo inhibitorio de 28.98 mm para el extracto, un halo de 32.94 mm para el control positivo de Dicloxacilina y un halo de 0.0 mm para el control negativo de Dimetil sulfoxido.

4.2 Contrastación de hipótesis

Para la contrastación de las hipótesis se usaron pruebas a lo largo de todo el proceso de investigación, como el tamizaje fitoquímico para saber qué metabolitos tienen las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) en forma cualitativa; también la cromatografía en capa fina para determinar y dar por sentado que sí el extracto tiene metabolitos principales como los alcaloides y flavonoides. Para saber si se tiene efecto antibacteriano se trabajó con concentraciones del extracto al 40%, 60% y 80%, como un control positivo a la Dicloxacilina a una concentración de 150 mg/mL y un control negativo como el Dimetil sulfoxido. Todas estas concentraciones fueron trabajadas por quintuplicados (5 ensayos); los resultados estuvieron sujetos a análisis estadísticos y a la escala de Duraffourd respectivamente.

Para el diseño estadístico se hizo la prueba de bondad y ajuste de Anderson Darling en el programa Minitab a fin de determinar si los resultados de los halos de inhibición guardan una distribución normal de los datos.

Se trataron los resultados también aplicando el análisis de varianza de un factor (ANOVA), en el cual se determina si hay diferencia significativa entre las varianzas de los promedios de cada grupo y entre grupos de los halos de inhibición del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano).

El estadístico de Tukey con su procedimiento de diferencia honestamente significativa que nos refleja la diferencia absoluta de los promedios de los halos inhibitorios con respecto al control negativo, basándose en las tablas asignadas para el número de ensayos y grados libertad entre los grupos ensayados.

Y por último, demostrar la sensibilidad de los halos con respecto a *Staphylococcus aureus*, teniendo en cuenta la escala de Duraffourd y aplicando el estadístico de T de una muestra (T-1 muestra) a cada concentración del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano).

Para las contrastaciones de hipótesis se tiene que hacer referencia a las hipótesis nulas y alternas respectivamente.

Contrastación de hipótesis general

La contrastación de la hipótesis general se basó en las contrastaciones de las hipótesis específicas planteadas, ya que la hipótesis general gira en sentido a ellas, por ser más minuciosas.

- **Contrastación de la hipótesis específica 1:**

H₀: El extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) poseen metabolitos secundarios.

H_a: El extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) no poseen metabolitos secundarios.

Para la contrastación de esta primera hipótesis específica se realizó el tamizaje fitoquímico y la cromatografía en capa fina para poder determinar si se obtiene cualitativamente los metabolitos de *Jungia rugosa* Less (matico serrano).

Los resultados para el tamizaje fitoquímico están referidos en la tabla 6, obteniendo como resultado según el cuadro de leyenda una evidencia notablemente (+++) para alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, antraquinonas, aminoácidos y carbohidratos; un poco de evidencia (+) para aldehídos y cetonas y sin nada de evidencia (-) para saponinas.

Las pruebas de cromatografía en capa fina de igual modo evidenciaron la presencia de alcaloides y flavonoides como podemos observar en la tabla 8 y figura 4.

En conclusión, al realizar el tamizaje fitoquímico se encontró notoriedad de los resultados para alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos y en cromatografía en capa fina una serie de flavonoides, según se evidenció al ser expuesta a luz uv de 366 nm. Con estos datos se aceptó la hipótesis nula; eso quiere decir que el extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) poseen metabolitos secundarios.

- **Contrastación de la hipótesis específica 2:**

H₀: La cepa de *Staphylococcus aureus* es sensible a una de las concentraciones de 40%, 60% y 80% de extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano).

H_a: La cepa de *Staphylococcus aureus* no es sensible a una de las concentraciones de 40%, 60% y 80% de extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano).

Para la contrastación de esta segunda hipótesis específica se realizaron los estadísticos de bondad y ajuste de Anderson Darling para saber si los resultados obtenidos en cada una de las concentraciones al igual que los del control positivo tienen una distribución normal de los datos; luego se aplicó el estadístico de T de 1 muestra a los halos de inhibición para saber si la cepa de *Staphylococcus aureus* es sensible a partir de 13 mm como lo indica el manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana y a la vez comparándolos con la escala de Duraffourd.

Se aplicó también el análisis de varianza de un factor (Anova) y el test de Tukey para determinar las diferencias de las varianzas en los promedios de los grupos y dentro de los grupos así como también ver la efectividad de cada concentración.

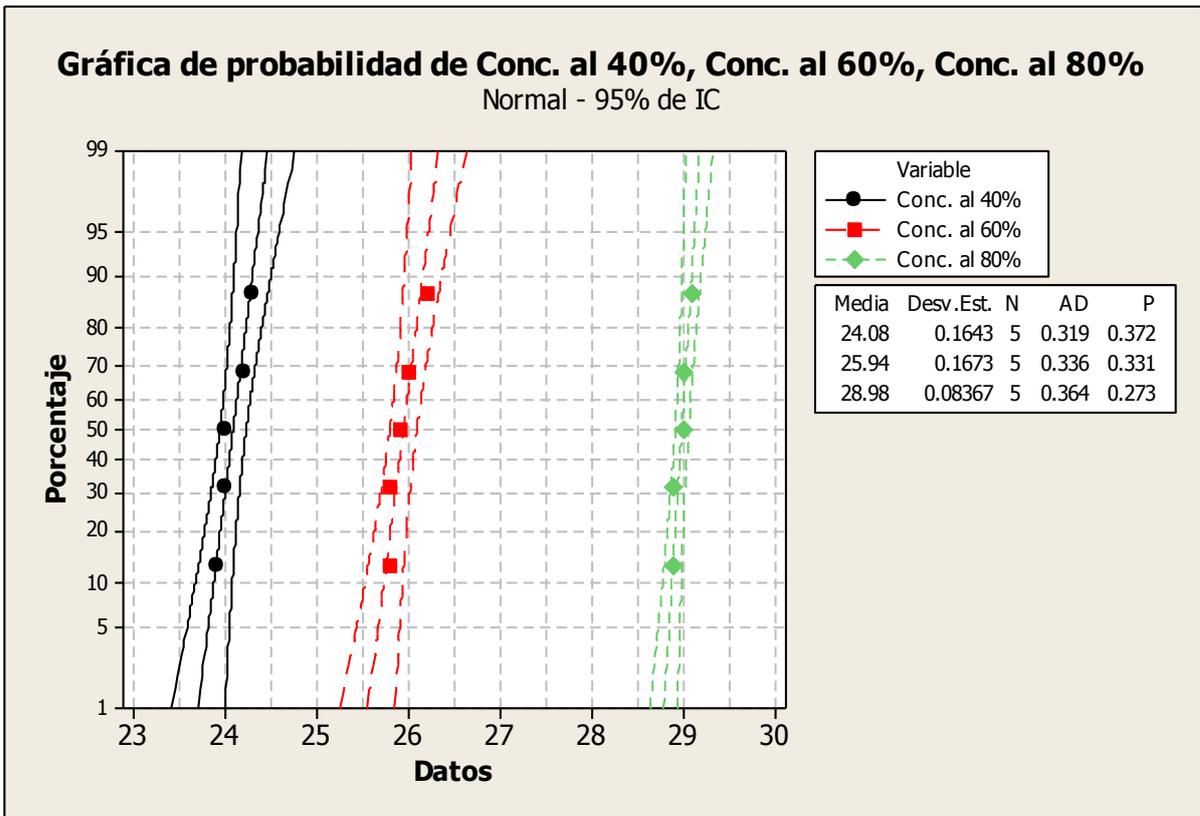


Figura N°06. Grafica de Distribución de Datos de los Halos de inhibición.

Fuente: Elaboración propia

En la figura 6 se observa la distribución normal de los datos a partir de los halos de inhibición de las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano), para un mejor entendimiento se hace referencia a las hipótesis correspondientes.

H₀: Los resultados de repetibilidad si presentan distribución normal

H_a: Los resultados de repetibilidad no presentan distribución normal

Para saber si los resultados presentan distribución normal se tuvo en claro el siguiente criterio de aceptación.

Criterio de aceptación: Si Pvalor > 0.05 se rechaza la H_a, demostrando que los resultados presentan distribución normal.

La tabla arroja resultados tales como 0.372, 0.331 y 0.273 como Pvalor, es decir, se aceptó la hipótesis nula; por lo tanto los resultados presentan distribución normal.

Tabla 13: Resultado de T de una muestra a las concentraciones de 40%, 60% y 80% de *Jungia rugosa* Less (matico serrano)

T de una Muestra: Conc. 40%, Conc. 60% y Conc. 80%							
Prueba de $\mu = 13$ Vs > 13							
Variable	N	Media	Des. St	E. St Me	95% L.I.	T	P
Con. 40%	5	24.08	0.1643	0.0735	23.9233	150.78	0.000
Con. 60%	5	25.94	0.1673	0.0748	25.7805	172.92	0.000
Con. 80%	5	28.98	0.0837	0.0374	28.9002	427.08	0.000

En la tabla 13 se constata que los resultados, al efectuar el análisis estadístico de T de una muestra a las diferentes concentraciones, son los de 40%, 60% y 80%, teniendo como valor 13 mm de Sensibilidad para *Staphylococcus aureus*, según el manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana.

Para un mejor entendimiento se hace referencia a las hipótesis correspondientes:

H₀: Los halos de Inhibición obtenidos son menores a 13 mm como marcador de sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*.

H_a: Los halos de Inhibición obtenidos son mayores a 13 mm como marcador de sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*.

Criterio de aceptación: Si Pvalor < 0.05 se rechaza la H₀, demostrando que los resultados son mayores a 13 mm como marcador de sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*.

Los resultados obtenidos son menores al Pvalor, demostrando que los valores de los halos son mayores a 13 mm y verificando con la escala de Duraffourd en la tabla 9, se pudo decir que son sumamente sensibles.

Tabla 14: Resultado de Análisis de Varianza a las concentraciones de 40%, 60% y 80% de *Jungia rugosa* Less (matico serrano)

Análisis de Varianza						
Origen de las variaciones	Suma de los cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Ent. Grupos.	3344.9016	4	836.2254	29035.60417	2.51749 E-37	2.86608
Dent. Grupos.	0.576	20	0.0288			
Total	3345.4776	24				

En la tabla 14 se constata que los resultados del análisis de varianza de un factor de todas concentraciones ensayadas incluyendo a los controles positivo y negativo respectivamente. Para un mejor entendimiento se hace referencia a las hipótesis correspondientes.

H₀: Todos los grupos presentan igual inhibición de halo ($P > 0.05$)

H_a: Todos o al menos uno de los grupos presentan diferente inhibición de halo ($P < 0.05$).

Criterio de aceptación: como el nivel de significancia usado es de 5% y el P hallado es menor a ese valor y el F experimental es $>$ al F crítico, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna. Por lo tanto estadísticamente existe diferencia significativa en todas las concentraciones ensayadas.

Los resultados obtenidos son (2.51×10^{-37}) menores al 0.05 del Pvalor y un F experimental de 29035 mayor que el F crítico, demostrando la aceptación de la hipótesis alterna con la cual se dice que todos o al menos uno de los grupos presenta diferente inhibición de halo.

Tabla 15: Resultado del Estadístico de Tukey a las concentraciones de 40%, 60%, 80% de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) y dicloxacilina

Estadístico de Tukey		
HSD	0.32	(Diferencia honestamente significativa)
Mul	4.23	(Valor Q alfa de la prueba de Tukey)
Mse	0.03	(Cuadrado del valor medio)
n	5	(Tamaño de muestra de cada uno de los grupos, número de elementos de cada grupo)

	Control Negativo	Concentración al 40%	Concentración al 60%	Concentración al 80%	Dicloxacilina 150 mg/mL
Control Negativo		24.08	25.94	28.98	32.82

En la tabla 15 se determina los resultados estadísticos de Tukey y basándonos en el criterio de aceptación que dice que los valores mayores al HSD son los que hacen a diferencia, que los grupos comparados con el control negativo presentan actividad.

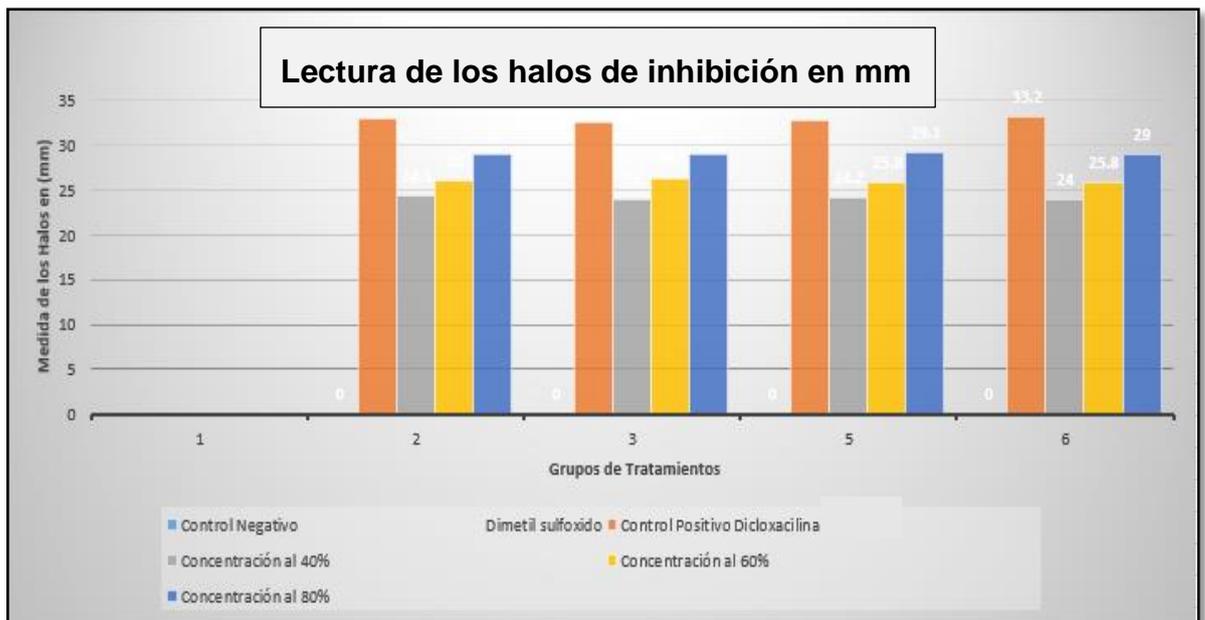


Figura N°07. Lectura de los Halos de Inhibición

Fuente: Elaboración propia

En la figura 7 se evidencia que los halos de inhibición a la concentración de 40% tiene un halo promedio de 24.08 mm, a una concentración de 60% un halo promedio de 25.9 mm y a una concentración de 80% un halo promedio de 29.0 mm; estos datos comparados con la escala de Duraffourd nos dice que la cepa de *Staphylococcus aureus* es muy sensible a las concentraciones ensayadas en los tres tratamientos.

Para dar conformidad a los resultados se hizo las pruebas de Anova y Tukey, concluyéndose que sí hay diferencia significativa en los halos de medición para cada grupo ensayado y que todas las concentraciones tienen efecto antibacteriano; es decir, que la cepa de *Staphylococcus aureus* es sensible a las concentraciones ensayadas, por ende, se acepta la hipótesis nula.

- **Contrastación de la hipótesis específica 3:**

H₀: El extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) presenta efecto antibacteriano comparado con Dicloxacilina sobre *Staphylococcus aureus*

H_a: El extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) no presenta efecto antibacteriano comparado con dicloxacilina sobre *Staphylococcus aureus*.

Para la contratación de esta tercera hipótesis se realizó la prueba de bondad y ajuste de Anderson Darling en el programa Minitab para determinar que los halos de las concentraciones de 40%, 60% y 80% y el control positivo tienen una distribución normal de los datos; esto quiere decir que no tiene datos atípicos; por ende, se puede aplicar el estadístico de T de una muestra para saber mediante la hipótesis que los datos de los halos son mayores a 13 mm, como lo especifica en la sensibilidad para *Staphylococcus aureus* en el manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana.

También se utilizó la escala de Duraffourd para ver la sensibilidad de acuerdo a los halos obtenidos; y, por último, un cuadro comparativo para ver los porcentajes de inhibición de cada una de las concentraciones y su control positivo (Dicloxacilina).

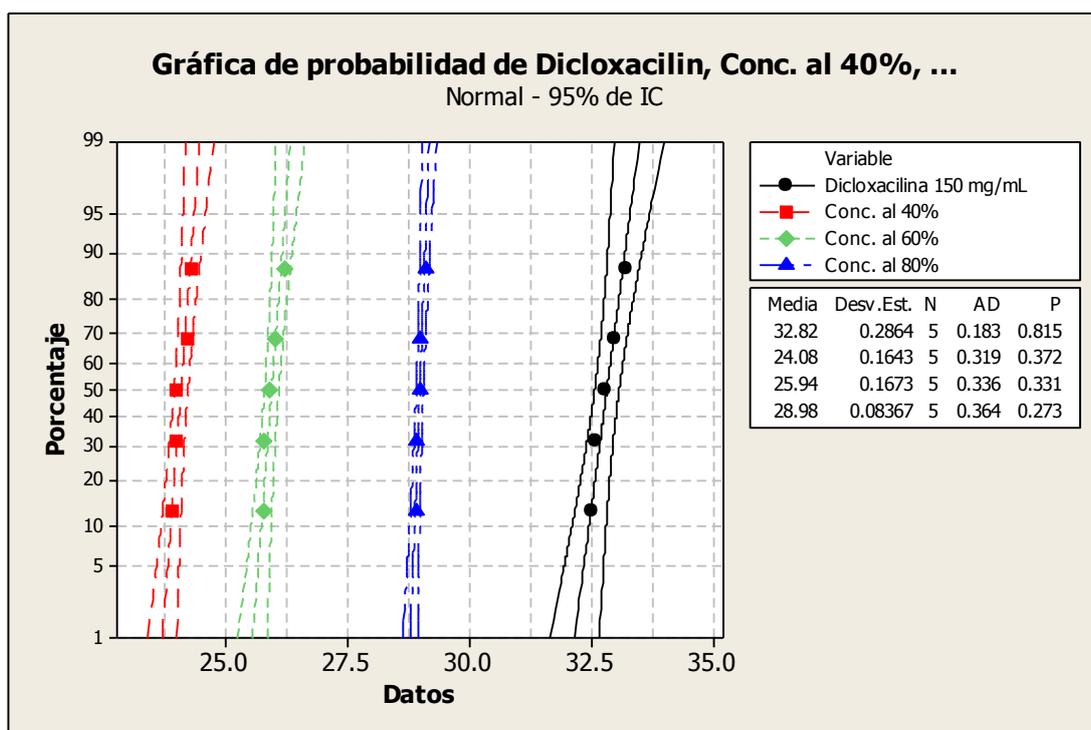


Figura N°08. Gráfica de Distribución de Datos de los Halos de inhibición conteniendo a las muestras y control positivo.

Fuente: Elaboración propia

La figura 8 nos muestra que el Pvalor para todas las muestras es mayor a 0.05, teniendo valores para el 40% de 0.372; al 60% de 0.331; al 80% de 0.273 y del control positivo de 0.815. Para el resultado se tomó como base las hipótesis correspondientes.

H₀: Los resultados de repetibilidad sí presentan distribución normal.

H_a: Los resultados de repetibilidad no presentan distribución normal

Para saber si los resultados presentan distribución normal se tomó en cuenta el siguiente criterio de aceptación.

Criterio de aceptación: Si Pvalor > 0.05 se rechaza la H_a, demostrando que los resultados presentan distribución normal.

El resultado, según tabla, es mayor al del criterio de aceptación por ende, aceptamos la hipótesis nula, por lo tanto los resultados presentan distribución normal.

Tabla 16: Resultado de T de una muestra con concentraciones de la muestra y el control positivo de *Jungia rugosa Less* (matico serrano)

T de una Muestra: Dicloxacilina 150 mg/mL, Conc. 40%, Conc. 60% y Conc. 80%							
Prueba de $\mu = 13$ Vs > 13							
Variable	N	Media	Des. St	E. St Me	95% L.I.	T	P
Diclo. 150mg/mL	5	32.820	0.286	0.128	32.547	154.77	0.000
Con. 40%	5	24.080	0.1643	0.0735	23.9233	150.78	0.000
Con. 60%	5	25.940	0.1673	0.0748	25.7805	172.92	0.000
Con. 80%	5	28.980	0.0837	0.0374	28.9002	427.08	0.000

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 16 se puede ver los resultados al efectuar el análisis estadístico de T de una muestra a las diferentes concentraciones como son los de 40%, 60%, 80% y el control positivo, teniendo como valor 13 mm de sensibilidad para *Staphylococcus aureus*, según el manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana.

Para un mejor entendimiento se hace referencia a las hipótesis correspondientes.

H₀: Los halos de Inhibición obtenidos son menores a 13 mm como marcador de sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*.

H_a: Los halos de Inhibición obtenidos son mayores a 13 mm como marcador de sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*.

Criterio de aceptación: Si $P_{valor} < 0.05$ se rechaza la H_0 , demostrando que los resultados son mayores a 13 mm como marcador de sensibilidad contra *Staphylococcus aureus*.

Los resultados obtenidos son menores al Pvalor, demostrando que los valores de los halos son mayores a 13 mm y verificando con la escala de Duraffourd en la tabla 9. Se puede decir que son sumamente sensibles.

Los halos obtenidos son sumamente sensibles por ser mayores a 20 mm según la escala de Duraffourd. ⁽²⁹⁾

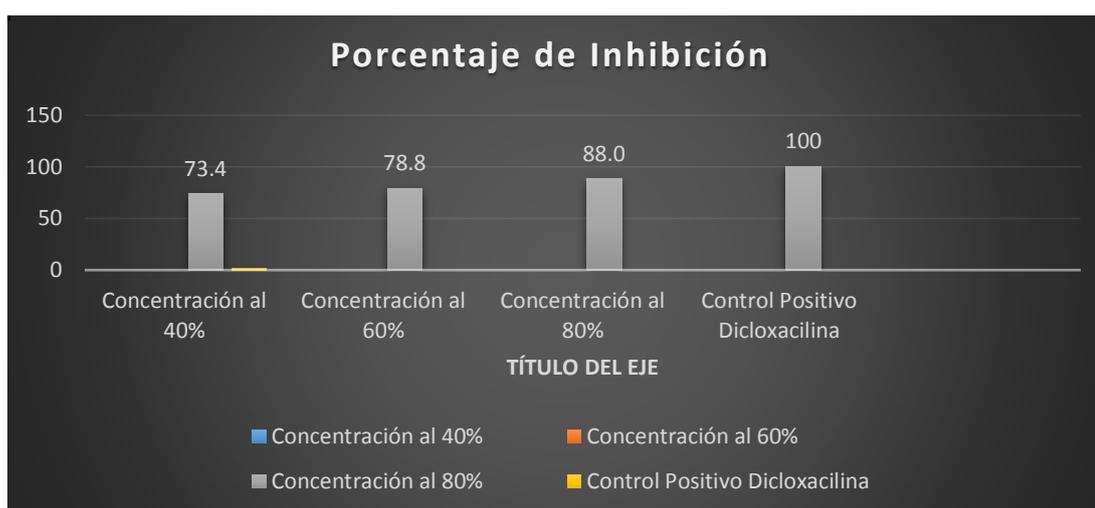


Figura N°9. Grafica de los porcentajes de inhibición

Fuente: Elaboración propia

Tabla 17. Porcentaje de los halos de muestra de *Jungia rugosa* Less (matico Serrano)

N° Placa	Dosis al 40 %	Porcentaje	Dosis al 60 %	Porcentaje	Dosis al 80 %	Porcentaje
1	24.3	73.64	26	79.51	29	87.88
2	24.0	73.62	26.2	79.15	28.9	88.11

3	23.9	73.54	25.9	78.72	28.9	88.38
4	24.2	73.78	25.8	78.18	29.1	87.65
5	24.0	72.29	25.8	78.42	29	87.88
Promedio	24.1	73.4	25.9	78.8	29.0	88.0

En la tabla 17 se evidencia que los halos de todas las muestras son sumamente sensibles y en la figura 9, los porcentajes comparados con el control positivo de Dicloxacilina. Con esto se acepta la hipótesis nula. Por lo tanto, el extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) presentan efecto antibacteriano, comparado con dicloxacilina sobre *Staphylococcus aureus*.

4.3 Discusión

En cuanto a la primera hipótesis podemos señalar que los resultados del tamizaje fitoquímico revelaron la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, antraquinonas, compuestos fenólicos, aminoácidos y carbohidratos en mayor cantidad que para aldehídos y cetonas; como se evidencia en el trabajo de investigación de Bejar, E. (2016) ⁽³⁾ que señala, obtener resultados muy notables en los metabolitos de flavonoides, compuestos fenólicos y taninos al ser investigados con la especie de *Jungia paniculata* en un extracto hidroalcoholico.

En las pruebas cromatográficas en capa fina, las fases móviles tienen buena elución para los alcaloides y flavonoides como lo plantea Olga Lock,

U (1994) ⁽²⁶⁾, en su libro de “Investigación fitoquímica”; con lo cual queda demostrada la primera hipótesis.

En cuanto a la segunda hipótesis, se puede afirmar que la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* L. (matico serrano) que se procedió con el método de dilución en agar (excavación en placa) con la cepa de referencia de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 sembrado en un agar nutritivo como el Trypticase soya agar (TSA), se hizo en tres concentraciones y cada una por quintuplicado como son el 40%, 60% y 80%, comparándolo con un control positivo como la Dicloxacilina a una concentración de 150 mg/mL y un control negativo que viene a hacer el reactivo de Dimetil sulfoxido, que a su vez actúa como diluyente del extracto seco de *Jungia rugosa* para obtener las concentraciones antes señaladas, la aplicación fue de 100 µL en las placas que contiene un hueco que previamente fue hecho por un sacabocado. Los halos fueron medidos con un vernier, obteniéndose como promedio de las cinco lecturas 24.08 mm para una concentración de 40%; 25.94 mm para el 60% y 28.98 mm para el 80%, analizados en primera instancia con la escala de Duraffourd que nos indica que los halos mayores a 20 mm son sumamente sensibles; como lo fundamentó en su trabajo Escobar, F. (2017) ⁽⁴⁾, quien también usó esta escala para saber si sus extractos hidroalcoholicos de *Punica granatum* tienen efecto antibacteriano, logrando obtener halos de 16.5 mm, 14 mm y 12 mm de sensible y muy sensible.

Finalmente en cuanto a la tercera hipótesis, se podría afirmar que la concentración del extracto a 80% es casi comparable al grado de inhibición bacteriana de Dicloxacilina a 150 mg/ml en la investigación realizada por **Arriola**. (2014): titulada “Actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de *Piper angustifolium* (matico) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple”. En la metodología se empleó concentraciones diferentes de extracto de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) y *Piper angustifolium* (matico) y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los pocillos en placas de agar TSA embebidos con cepa de *Staphylococcus aureus* con resistencia

múltiple, para la cual la concentración al 100% del extracto de *Piper angustifolium* (matico) mostró actividad antibacteriana significativa.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones:

1. El extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) presentó metabolitos secundarios tales como alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos y antraquinonas.
2. La cepa de *Staphylococcus aureus* es sumamente sensible a las concentraciones de 40%, 60% y 80% de extracto etanólico de *Jungia rugosa* Less (matico serrano).
3. Comparando la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) al 80%, es la concentración que se asemeja a la actividad antibacteriana que presenta la dicloxacilina.

5.2. Recomendaciones:

1. Realizar estudios sobre la toxicidad aguda de las hojas de la planta de (*Jungia rugosa L*), con la finalidad de garantizar su utilidad en los seres humanos.
2. Profundizar en estudios para determinar la cantidad mínima inhibitoria (MIC) y bactericida (MIB)
3. Hacer investigaciones de sinergia con otras especies vegetales para incrementar el efecto antibacteriano y probarlo en diferentes cepas multiresistentes.

REFERENCIAS

1. Serra, M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Volumen 16, Nº 3 [Fecha de acceso 26 de mayo del 2018] URL disponible en: http://scielo.Sld.cu//scielo.php=sci_arttext&pid.
2. Organización Mundial de la Salud Medicina Tradicional. Who 2002. [Fecha de acceso 10 de marzo del 2018] Disponible en: <http://apps.who.OMS>
3. Béjar, E. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Jungia paniculata* (dc.) A. Gray “matico serrano” en un modelo de daño gástrico en ratas inducido por etanol 70%. [Tesis]. Lima, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
4. Escobar, B; Quispe, Lidia. Actividad antibacteriana de los extractos de acetato de etilo y acetona del Zumo de *Punica granatum* L. “granada”. [Tesis]. Lima, Universidad Norbert Wiener; 2017.
5. Espejo, E. *et al.* Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Piper aduncum* (Matico) frente a cepas de *porhyromonas gingivalis* (estudio in vitro). [Tesis]. Lima, Universidad Nacional Hermilio Valdizán; 2015
6. Arriola, N. Actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de *Piper angustifolium* (Matico) y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) en cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. [Tesis]. Callao, Universidad Nacional del Callao; 2014.

7. Oriani, D. Inhibición de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* por metabolitos de *Pseudomonas aeruginosa*. Catedra Microbiología 1999. [Fecha de acceso 15 de abril del 2018] Disponible en: <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/anuavet/n1999a15oriani.pdf>.
8. Concepción G. *et al.* Susceptibilidad in vitro de una Cepa de *Staphylococcus aureus* Resistente a Diferentes Extractos Vegetales. Rev. Agraria 2009. Disponible en: [http://www.uaaan.mx/agraria/attachments/article/62/Agraria_2009\(6\)1-3-4.pdf](http://www.uaaan.mx/agraria/attachments/article/62/Agraria_2009(6)1-3-4.pdf). [Fecha de acceso 15 de mayo del 2018]
9. Exposito, E. *et.al.* acción antimicrobiana in vitro de extractos hidroalcohólicos de frutos y hojas de la especie *Ficus carica* L. Rev. Electronica DR Zoilo. 2017 Disponible en: <http://revzoilomarinello.sld.cu/index.php/zmv/article/view/117>. [Fecha de acceso 10 de mayo del 2018]
10. Nidia M. Actividad antimicrobiana de *Waltheria indica* y *Acacia farnesiana*. Rev. Cenic. 2009. [Fecha de acceso 15 de mayo del 2018] Disponible en <http://www.redalyc.org/html/1812/181221568008/>
11. Román, R. *et. al.* Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a cepas bacterianas multiresistentes. Rev. Electrónica ResearchGate 2013. [Fecha de acceso 02 de mayo del 2018] Disponible en: <http://www.researchgate.net/publicación/23602662>
12. Solís, S. Determinación de la actividad antimicrobiana de *Jungia rugosa* Less en extractos de n-hexano y diclorometano. [Tesis]. Cuenca: Repositorio institucional, Universidad de Cuenca; 2014.

13. The Plant List. U.S.A. 2010. *Jungia Rugosa* Less. [Fecha de acceso 06 de julio del 2018] URL Disponible en: <http://www.theplantlist.org/tpl/record/gcc-15596>.
14. The International Plant Names Index U.S.A. 2005 Asteraceae *Jungia rugosa* Less [base de datos en línea Madrid] [Fecha de acceso 10 de mayo del 2018]. Disponible en: <http://www.ipni.org/ipni/idPlantNameSearch.do>
15. Brugueras, M. Cuba. Infomed red en salud de Cuba. [base de datos en línea la Habana] [Fecha de acceso 10 de mayo del 2018]. URL: Disponible en: <http://www.infomed.cu/servicios/medicamentos/medicamentos/dicloxacilina>.
16. Cisternas L, Avellano. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile *Rev Med Chile*.2010; 138(1): 1288-1293
17. Dale, M.*et.al.* en *Farmacología*: McGraw-Hill. Interamericana.España. 2003.7
18. Lowy, F. *Staphylococcus aureus*. 1998. Disponible en: [org/wiki https://es.wikipedia.org/wiki /Staphylococcus_aureus](https://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus).
19. Berns, K. ATCC. Washington 1996. [Fecha de acceso 30 de junio del 2018]. URL: Disponible en: [https://en.wikipedia.org/wiki/ATCC_\(company\)](https://en.wikipedia.org/wiki/ATCC_(company))
20. Cervantes, E. *et.al.* Características generales del *Staphylococcus aureus*. /en línea/ Mexico: Latinoamericana Ptología clínica Medde Lab 2014; 61(1)28-40. /fecha de acceso 26 de mayo del 2018/. <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141.pdf>.

21. Silva M. Staphylococcus aureus [en línea]. Chile: Curso de Microbiología Y Parasitología; 2007 [Fecha de acceso 26 de mayo del 2018]. <http://7staphylococcus-aureus.blogspot.pe/>
22. Contreras S, Freddy O. Fisiopatología: McGraw-Hill. Interamericana. España. 2003.
23. Ministerio de Salud. Dicloxacilina. [Fecha de acceso 15 de abril del 2018] Disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/upload/uploaded/pdf/>
24. Araujo J y Salas R. Actividad antimicrobiana de plantas. [En línea] Lima: Revista científica. [Fecha de acceso 08 de mayo del 2018]. URL: Disponible en <file:///C:/Users/user/Desktop/clari%20tesis/antibiogramas/cientifica.pdf>
25. Artemio C. La fitofarmacopea peruana. [En línea] Perú; Revista Científica del Laboratorio de Productos Naturales 2008; [Fecha de acceso 21 de marzo del 2018] <http://bibliotecafarmaceutica.com/Fitoica/2008/articulo%203.pdf>
26. Lock O. Investigación Fitoquímica. Segunda Edición. Lima: Editorial Fondo Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994.
27. Jorgensen J. y Sahn D. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana: Consideraciones generales. En: Manual de Microbiología Clínica. Sexta edición. Eds: Murray P., Baron E., Pfaller M y col: Sociedad Americana de Microbiología. Washington DC, 1995.
28. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [en línea] Lima: Instituto Nacional de Salud; 2002. [fecha de acceso 25 de febrero del 2018]. <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad>.

29. Taroco, V. Seija, R. Vignol. Temas de Bacteriología Y Virología Médica. Cap. 32. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Pg:668-669

30. Duraffourd C,y Lapraz J. Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Editorial Masson; 4th ed Francia; 1983.

ANEXOS

ANEXO 1: Matriz de consistencia

Actividad Antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> Less (Matico serrano) sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>						
PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
<p>GENERAL</p> <p>¿El extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano) posee efecto antibacteriano sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>GENERAL</p> <p>Determinar si el extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano) posee efecto antibacteriano sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>GENERAL</p> <p>El extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano) posee efecto antibacteriano en cepas <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>V.I</p> <p>Extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano)</p>	<p>Marcha Fitoquímica</p> <p>Prueba de Solubilidad</p> <p>Cromatografía en capa fina</p> <p>Concentraciones de <i>Jungia rugosa</i> Less</p>	<p>• Alcaloides</p> <p>• Flavonoides</p> <p>• C. Fenólicos</p> <p>• Taninos</p> <p>• Insoluble</p> <p>• Poco soluble</p> <p>• Soluble</p> <p>• Alcaloides</p> <p>• Flavonoides</p> <p>• 40%, 60% y 80%</p>	<p>Tipo:</p> <p>Experimental</p> <p>Diseño:</p> <p>Experimental mixto , transversal, In Vitro</p> <p>Población:</p> <p>• Extracto etanolico de <i>Jungia rugosa</i> Less</p> <p>• Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538</p> <p>Muestra</p> <p>• 500 gramos de hojas de <i>Jungia rugosa</i> Less</p> <p>• 15 placas Petri con TSA cultivadas con Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538</p>
<p>ESPECIFICO</p> <p>1 ¿El extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> L. (matico serrano) posee metabolitos secundarios?</p>	<p>ESPECIFICO</p> <p>1 Identificar algunos de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> L. (matico serrano) responsables del efecto antibacteriano frente a <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>ESPECIFICO</p> <p>1. Existen metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano) responsables del efecto antibacteriano sobre cepas de</p>	<p>V.D</p> <p>Efecto antibacteriano sobre cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Método de Difusión en Agar (excavación en placa)</p>	<p>Diámetros de Inhibición medidos con el Vernier en mm, siguiendo la escala de Duraffourd:</p>	

<p>2 ¿Cuál es la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> L. (matico serrano) con efecto antibacteriano sobre cepas <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>3 ¿El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> L. (matico serrano) será más eficaz frente a la Dicloxacilina 500mg sobre cepas <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>2 Determinar qué concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> L. (matico serrano) posee efecto antibacteriano sobre cepas <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>3 Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> L. (matico serrano), con la actividad de dicloxacilina sobre las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>2. Existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano) con efecto antibacteriano sobre cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>3. Existe efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Jungia rugosa</i> Less (matico serrano) comparado con el fármaco de dicloxacilina sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>			<ul style="list-style-type: none"> ● Nula (-) si el diámetro es menor a 8 mm ● Sensible (+) si el diámetro esta entre 8 a 14 mm ● Muy Sensible (++) si el diámetro esta entre 14 a 20 mm ● Sumamente Sensible (+++) si el diámetro es mayor a 20 mm 	<p>Instrumento: ficha de observación ad-hoc</p> <p>Procesamiento y análisis de datos: Análisis descriptivo e inferencial con los programas Excel mediante pruebas:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Anova ● Tukey ● T de 1 muestra ● Anderson Darling
---	---	---	--	--	---	---

ANEXO 2: constancia taxonómica de *Jungia rugosa* Less

 	UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO MUSEO DE HISTORIA NATURAL	
---	--	---

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 304-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril), recibida de **Kelli Mabel Rodríguez Tomás e Inés Condori Cucchi**; estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; ha sido estudiada y clasificada como: ***Jungia rugosa* Less**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: *Jungia*

ESPECIE: *Jungia rugosa* Less

Nombre vulgar: "Matico serrano"
Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 29 de agosto de 2018


Mag. ASUNCIÓN A. CAÑO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb

ANEXO 3: Certificado de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Catalog Number: 0485 Lot Number: 485-577 Reference Number: ATCC® 6538™ Purity: Pure Passage from Reference: 3 (7) Mean Assay Value (MAV): 26 CFU per 0.1 ml</p>	<p>Expiration Date: 2019/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Kassandra L Hall Release Date: 2017/10/20</p>
---	---

Performance	
<p>Macroscopic Features: Medium to large, convex, circular, glistening, smooth, creamy, opaque, beta hemolytic - both light gold and darker gold colonies may be present.</p> <p>Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters.</p>	<p>Medium: SBAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>

<p>ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative</p> <div style="text-align: center;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>
--	---

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 Microbiologies, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

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

(7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as method, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.

ANEXO 4: Hojas de *Jungia rugosa* (matico serrano)

Hojas de *Jungia rugosa* Less provenientes del centro poblado Matacoto, provincia de Yungay departamento de Ancash.



Anexo N°05: Extracto etanólico de las Hojas de *Jungia rugosa* (matico serrano)

Extracción etanólica de las Hojas de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) se realizó en el laboratorio de fitoquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímica.



Anexo

N°06:

Rendimiento del

proceso de extracción del extracto etanólico de las hojas de *Jungia rugosa*. L (matico serrano).

$$n = \frac{M_{EXT.}}{M^{\circ}} \times 100$$

n: Rendimiento del extracto

MEXT.: Peso del extracto seco

M°: Peso inicial

100: Factor matemático para los cálculos

Anexo N°07: Rotavapor del extracto etanólico de las Hojas de *Jungia rugosa* (matico serrano) del laboratorio de la facultad Cayetano Heredia



Anexo N°08: Tamizaje fitoquímico de *Jungia rugosa* (matico serrano) se realizó en el laboratorio de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímica.



Anexo N°09: Cromatografía en capa fina de *Jungia rugosa* L (matico serrano) en el laboratorio de fitoquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímica.



Anexo N°10: Reactivación de los cultivos de cepa *Staphylococcus aureus*



Anexo N°11: Preparación y estandarización de los inóculos de cepa *Staphylococcus aureus*



Para la estandarización de las colonias de cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 se usó el método de dilución en Caldo tioglicolato, hasta obtener la turbidez equivalente al Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 UFC/mL).



Cepa suspendidas en caldo Tioglicolato, a partir de este se realizó una dilución con solución salina fisiológica estéril

Anexo N°12: Preparación de Dicloxacilina 150mg/ml

Muestra	W dicloxacilina	W Capsula vacia	Dicloxacilina
M-1	0.6469	0.0982	548.7
M-2	0.6519	0.0997	552.2
M-3	0.6424	0.0957	546.7
M-4	0.6482	0.0991	549.1
M-5	0.6523	0.0997	552.6
M-6	0.6472	0.0971	550.1
M-7	0.6513	0.0984	552.9
M-8	0.6398	0.0957	544.1
M-9	0.6439	0.0974	546.5
Promedio	0.6471	0.0979	549.2

549.2 mg/Cap → 500 mg dicloxacilina
x mg ← 150 mg dicloxacilina

x	=	164.76
---	---	--------

entonces 164.76 mg se disolveran en 1 mL de DMSO
Entonces seria 1.6 gramos para 10 mL de DMSO

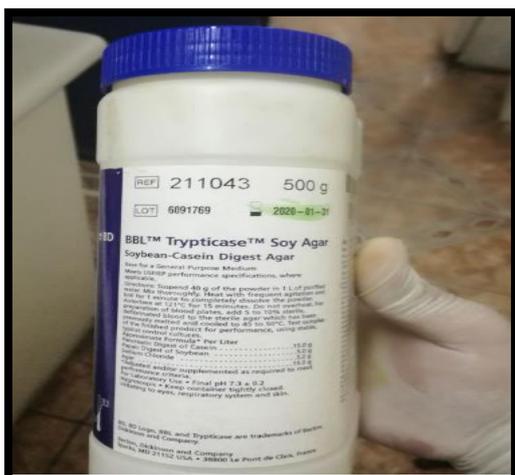
Anexo N° 13. Formulación de las concentraciones del extracto etanólico de las Hojas de *Jungia rugosa* (Matico serrano) y volumen de diluyente.

Concentración inicial	Extracto de <i>Jungia rugosa</i>
100%	10 g

Densidad de dimetil sulfoxido (DMS) = 1.1 g/cm³
D=M/V---- Para 40% se diluye con 6g de DMS-----5.45 ml

concentración	Extracto de <i>Jungia rugosa</i> en (gramos)	DMS diluyente (ml)
40%	4 gr	5.45 ml
60%	6 gr	3.63ml
80%	8 gr	1.8 ml

Anexo N°14: Preparación del medio de cultivo

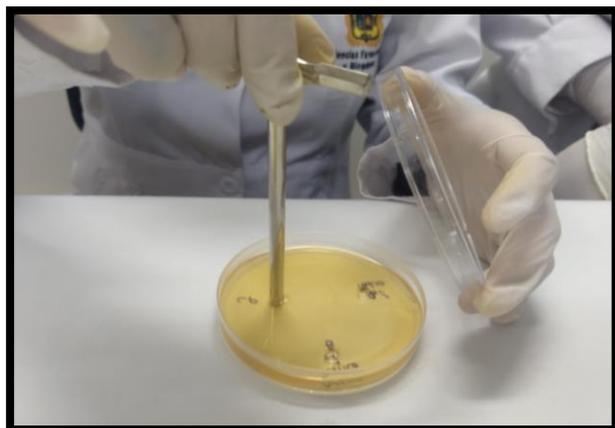


Medio de Cultivo Agar Soya Trypticase TSA



Pesar y colocar el medio de cultivo TSA en un frasco 250 mL

Anexo N°15: Determinación de la actividad antibacteriana

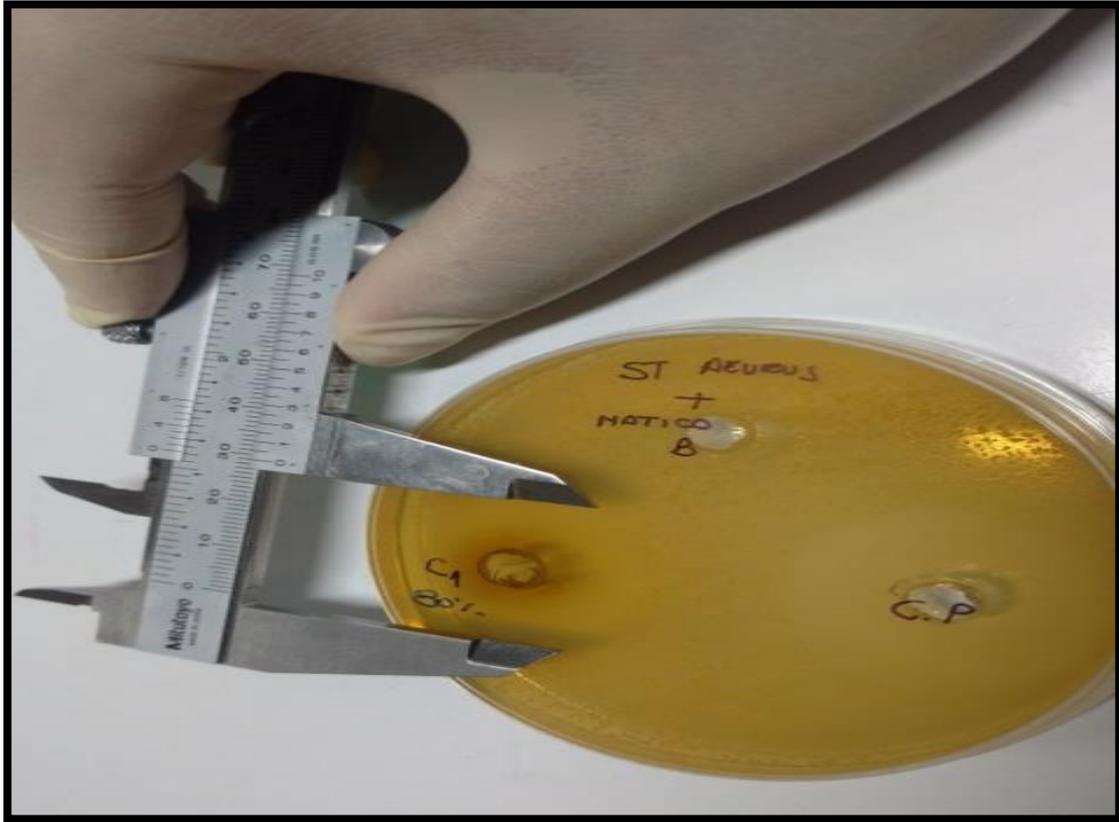


Se hicieron excavaciones en número de tres por cada placa de 8mm de diámetro y 8 mm de profundidad empleando un sacabocado estéril



Inoculación del extracto etanólico de las hojas de la *Jungia rugosa* Less "Matico Serrano" (concentraciones de 40%, 60% y 80%), Dimetil Sulfoxido DMSO y Dicloxacilina, Rotular cada una de las placas y proceder a incubar las placas a 37°C por un periodo de 24 horas

Anexo N°16: Lectura de resultados de halos de inhibitorios



Una vez transcurrido el tiempo de incubación, retirar las placas de la incubadora y proceder a medir los diámetros de los halos de inhibición empleando el vernier

Anexo N°17 Ficha de observación AD-HOC

FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE LA MARCHA FITOQUIMICA

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE (*JUNGIA RUGOSA LESS*) MATICO SERRANO SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus*

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático.

Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.

Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.

En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.

Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.

Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea

MARCHA FITOQUÍMICA DE LAS HOJAS DE (<i>Jungia rugosa Less</i>)				
Nº	Metabolito	Reactivo de Reacción	Reacción Positiva	Resultado
1.	CARBOHIDRATOS	Fehling A y Fehling B	Precipitado anaranjado ladrillo	+++
2.	ALMIDÓN	Lugol	Coloración oscura	-
3.	CETONAS	2,4 DNPH	Formación de anillo rojizo	+
4.	ALCALOIDES	Wagner	Precipitado marrón	+++
		Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	++
		Reineckato	Coloración rosa	+++
5.	COMPUESTOS FENÓLICOS	FeCl ₃	Coloración Negro	+++
6.	TANINOS	Gelatina 1%	Precipitado denso blanco	+++
7.	FLAVONOIDES	Shinoda	Flavanoles: Rojo a magenta	+++
8.	AMINOÁCIDOS	Ninhidrina	Coloración violácea	+++
9.	NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Bortranger (NaOH 5%)	Coloración roja	+++

Leyenda:

(-) : Nulo

(++) : moderado

(+) : poco

(+++): abundante

HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

N°

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS
DE (*JUNGIA RUGOSA LESS*) MATICO SERRANO SOBRE CEPAS DE
Staphylococcus aureus

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE

50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100

1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?.....() () () () ()
(x)

2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidas a los conceptos del tema?.....() () () () () (x)

3. ¿Qué porcentaje de un ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?.....() () () () (x) ()

4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?.....() () () () () (x)

5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia logica?.....() () () () () (x)

6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?.....() () () () () (x)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

Considero que los ítems propuestos son los indicados

2. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

Considero que los ítems propuestos son los indicados

3. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

Considero que el ítem para Flavonoides debería de ser más detallada con reactivos más específicos.

Fecha: 2018-10-07

FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE PRUEBA DE
SOLUBILIDAD

N°

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS
DE (*JUNGIA RUGOSA LESS*) MATICO SERRANO SOBRE CEPAS DE
Staphylococcus aureus

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático.

Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.

Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.

En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.

Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.

Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea

PRUEBA DE SOLUBILIDAD DE LAS HOJAS DE (<i>Jungia rugosa</i> Less)			
N°	Solventes	Identificación	Resultado
1.	Etanol	Soluble, insoluble y Poco soluble	Soluble
2.	Metanol	Soluble, insoluble y Poco soluble	Soluble
3.	Cloroformo	Soluble, insoluble y Poco soluble	Insoluble
4.	Agua	Soluble, insoluble y Poco soluble	Poco Soluble
5.	Isopropanol	Soluble, insoluble y Poco soluble	Insoluble

Leyenda: (ins°): Insoluble. (PS°): Poco Soluble (S°) : Soluble.

**HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO
CUSTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS**

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS
DE (**JUNGIA RUGOSA LESS**) MATICO SERRANO SOBRE CEPAS DE
Staphylococcus aureus

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE

50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100

7. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograran los objetivos propuestos?.....() () () () () (x)

8. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidas a los conceptos del tema?.....() () () () () (x)

9. ¿Qué porcentaje de un ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?.....() () () () () (x) ()

10. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprension?.....() () () () () (x)

11. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia logica?.....() () () () () (x)

12. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?.....() () () () () (x)

SUGERENCIAS

4. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

Considero que los ítems propuestos son los indicados, ya que otros pueden muy tóxicos y fiscalizados.

5. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

Considero que los ítems propuestos son los indicados.

6. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

Considero que hay que tener cuidado con el Cloroformo y con el Metanol este último por ser controlado, pero con mayor accesibilidad.

Fecha: 2018-10-07

FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA DETERMINAR EL EFECTO ANTIBACTERIANO DE *Jungia rugosa* Less (MATICO SERRANO SOBRE *Staphylococcus aureus*

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE (***JUNGIA RUGOSA LESS***) MATICO SERRANO SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus*

INTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático.

Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.

Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.

En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.

Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.

Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea

TABLA

Actividad Antibacteriana de *Jungia rugosa* Less (matico serrano) frente a *Staphylococcus aureus* por el método de difusión en agar (excavación en placa) en 100 µl

Nº DE PLACA	Concentración (%) del extracto etanólico de <i>Jungia rugosa</i> Less (Matico serrano) 100 µl			CONTROLES	
				(+) Dicloxacilina 150 mg/mL	(-) Dimetil Sulfoxido
	Longitud del Halo de Inhibición (mm)				
	Matico serrano al 40 %	Matico serrano al 60 %	Matico serrano al 80 %	Dicloxacilina 150 mg/mL	Dimetil sulfoxido
1	24.3	26.0	29.0	33.0	0

2	24.0	26.2	28.9	32.6	0
3	23.9	25.9	28.9	32.5	0
4	24.2	25.8	29.1	32.8	0
5	24.0	25.8	29.0	33.2	0

**HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO
CUSTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS**

N°

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS
DE (*Jungia rugosa* Less) MATICO SERRANO SOBRE CEPAS DE
Staphylococcus aureus

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE

50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100

¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograran los objetivos propuestos?.....() () () () () (x)

13. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidas a los conceptos del tema?.....() () () () () (x)

14. ¿Qué porcentaje de un ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?.....() () () () () (x)

15. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprension?.....() () () () () (x)

16. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia logica?.....() () () () () (x)

17. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?.....() () () () () (x)

SUGERENCIAS

7. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

Considero que los ítems propuestos son los indicados.

8. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

Considero que los ítems propuestos son los indicados.

9. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

Considero que se tomaron las medidas para que el trabajo abarque lo esperado.

Fecha: 2018-10-07