

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**



**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO  
DE LAS HOJAS DE *Theobroma cacao* L. (cacao) SOBRE  
*Staphylococcus aureus***

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

**TESISTAS:**

**BACHILLER: HUAMANI NEYRA, ROSMERY YOSELLY**

**BACHILLER: VENTURA ONCEVAY, STEPHANY**

**ASESOR:**

**Mg. OSCAR BERNUY FLORES LOPEZ**

**LIMA – PERÚ**

**2022**

## **DEDICATORIA**

Dedico este logro y esfuerzo a mi valentía a mi constancia y perseverancia de lograr este sueño convertido en realidad también dedico a mi esposo y a mis hijos quienes siempre me alentaron a seguir en esta etapa de mi vida con éxito. Fueron el impulso más grande que me motivo a presentar este proyecto de tesis.

**HUAMANI NEYRA, ROSMERY YOSELLY**

Dedico el presente trabajo a Dios que me ha permitido darme fuerza y salud para seguir adelante, a mis padres por todo su esfuerzo constante, a mi madre por apoyarme en todo momento, ser un roble e imagen de lucha constante para mí, a mi padre por darme la fortaleza y tranquilidad para afrontar dificultades, les agradezco por haberme formado con buenos valores y hábitos, a mis profesores que durante los años de carrera me brindaron su apoyo y conocimiento. Gracias a todos ustedes.

**VENTURA ONCEVAY, STEPHANY**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por haberme otorgado una maravillosa familia y amigos, los cuales siempre me apoyaron incondicionalmente impulsándome a lograr este proyecto, doy gracias a ellos por haber creído en mí. No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a sus aportes, a su amor, a su inmensa paciencia y apoyo, ha sido más sencillo de lograr esta meta. Les agradezco y hago presente mi gran afecto hacia el doctor Flores López, Óscar Bernuy y Vilchez Caceda, Héctor

**HUAMANI NEYRA, ROSMERY YOSELLY**

Agradezco a Dios enormemente por haber dado una familia tan maravillosa, amistades leales y sobre todo agradezco a la universidad Inca Garcilaso de la Vega donde formo familia y hermandad en todo este proceso de estudio, al asesor Óscar Bernuy Flores López.

**VENTURA ONCEVAY, STEPHANY**

## Resumen

La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) sobre el *Staphylococcus aureus*, especie vegetal que fue colectada en la Ciudad de Tarapoto departamento de San Martín, el estudio realizado fue de tipo experimental, cuantitativo y descriptivo. La metodología aplicada en los ensayos realizados fue, tamizaje fitoquímico y la técnica microbiológica *in vitro*, donde empezaron con el sembrado, cultivo de cepas, comparación con *Staphylococcus aureus* y culminó en la aplicación de disco según el método de Kirby Bauer en comparación con el control positivo (ciprofloxacino). Finalmente, los resultados mostraron mayor presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, esteroides, triterpenos y alcaloide, mientras que en el efecto antibacteriano sobre las bacterias *Staphylococcus aureus* se demostró que en la diferente concentración del extracto hidroalcohólico al 10, 25,50 y 75% el que tenía mayor porcentaje inhibitorio frente al ciprofloxacino y una medida promedio de halo inhibitorio (68.70 %) superior a las demás concentraciones era el extracto al 75%.

**Palabras clave:** *Theobroma cacao* L., antibacteriano, inhibición, ciprofloxacino, *in vitro*.

## Abstract

The objective of the research was to evaluate the antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Theobroma cacao* L. (cocoa) on *Staphylococcus aureus*, a plant species that was collected in the City of Tarapoto, department of San Martín, the study was experimental, quantitative and descriptive. The methodology applied in the tests carried out was phytochemical screening and the *in vitro* microbiological technique, where they began with the seeding, cultivation of strains, comparison with *Staphylococcus aureus* and culminated in the application of the disk according to the Kirby Bauer method compared to the control. positive (ciprofloxacin). Finally, the results showed a greater presence of secondary metabolites such as flavonoids, steroids, triterpenes and alkaloids, while in the antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* bacteria it was shown that in the different concentrations of the hydroalcoholic extract at 10, 25, 50 and 75% the that had a higher inhibitory percentage against ciprofloxacin and an average measure of inhibitory halo (68.70%) higher than the other concentrations was the 75% extract.

**Keywords:** *Theobroma cacao* L., antibacterial, inhibition, ciprofloxacin, *in vitro*.

## Introducción

El alto valor medicinal de las especies vegetales que se encuentran en nuestra flora ha convertido al Perú en uno de los países más ricos en investigación botánica. Desde la antigüedad, nuestros antepasados han utilizado y consumido plantas o hierbas medicinales con la intención de aliviar o reducir cualquier tipo de enfermedad o dolencia, práctica que continúa hasta el día hoy.

La especie vegetal del *Theobroma cacao* L. (cacao) crecen en las zonas tropicales de nuestra flora peruana, a pesar de que existen diversos estudios y desarrollo de productos relacionado con su fruto, se han encontrado pocas investigaciones que destaquen su efecto antibacteriano producido por sus hojas contra cepas bacterianas grampositivas como *Staphylococcus aureus*. Una de las causas más comunes cuando nos referimos a infecciones es por la bacteria de *Staphylococcus aureus* que afecta a la población o personas que tienen contacto con algún centro de salud. Investigaciones realizadas desde la década del 50 mencionan la evolución de esta bacteria y su resistencia a los antibióticos como penicilina, clindamicina, entre otros, como consecuencia de la automedicación excesiva.

Es por ello que es urgente desarrollar e incentivar planes terapéuticos para combatir estas bacterias grampositivas (*Staphylococcus aureus*). mediante uso de plantas medicinales, por lo que el presente trabajo de investigación evaluó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas *Theobroma cacao* L. (cacao) para utilizarse como alternativa de origen vegetal.

## ÍNDICE

**Dedicatoria**

**Agradecimiento**

**Índice de tablas**

**Índice de figuras**

**Índice de anexos**

**Resumen**

**Abstract**

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	9
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	9
1.2. Identificación y formulación del problema .....	10
1.2.1. Problema general .....	10
1.2.2. Problemas específicos .....	10
1.3. Objetivos de la investigación .....	10
1.3.1. Objetivo general.....	10
1.3.2. Objetivos específicos .....	11
1.4. Justificación y viabilidad de la investigación .....	11
1.5. Delimitación de la investigación .....	12
1.6. Limitaciones de la investigación.....	12
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	13
2.1. Antecedentes de la Investigación .....	13
2.1.1. Nacionales.....	13
2.1.2. Internacionales.....	14
2.2. Bases teóricas .....	16
2.2.1 Theobroma cacao L. (cacao).....	16
2.2.2 Botánica y ubicación geográfica de la especie vegetal.....	16
2.2.3. Usos y propiedades .....	17
2.2.4. Bacteria Staphylococcus aureus.....	18
2.3. Formulación de hipótesis.....	19
2.3.1. Hipótesis general.....	19
2.3.2. Hipótesis específica .....	19
2.4. Operacionalización de variables e indicadores .....	19
2.5. Definición de términos básicos.....	20
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA .....	20
3.1. Tipo de investigación .....	20
3.2. Diseño de la investigación .....	20
3.3. Población .....	21
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	25
3.5. Técnicas para el procesamiento de datos.....	26
CAPÍTULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS .....	27
4.1. Presentación de resultados .....	27
4.2. Contrastación de hipótesis.....	30
4.3. Discusión de resultados.....	33
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	34
5.1. Conclusiones .....	34

5.2. Recomendaciones.....	34
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	35
ANEXOS.....	40



## CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Descripción de la realidad problemática

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* son las más comunes a nivel comunitario y nosocomial; este microorganismo o bacteriemia estafilocócica provoca muertes que, dependiendo de la resistencia y el tipo de paciente, puede alcanzar hasta un 60% de mortalidad<sup>1</sup>. El *Staphylococcus aureus* está presente en muchas infecciones cutáneas y patógenas, perjudicando a poblaciones adultas e infantiles, mostrando incluso resistencia microbiana desde la entrada de la primera penicilina en la década de los años cuarenta<sup>2</sup>.

El aumento expansivo por la resistencia de cepas bacterianas en varios grupos de antibióticos en los últimos años no solo pone en peligro la salud del ser humano, sino que también afecta el nivel socioeconómico como consecuencia del aumento del costo de la atención en salud. Es por ello que se ha empezado a dar mayor importancia y ampliar los conocimientos sobre el estudio de plantas con propiedades fitoterapéuticas<sup>3</sup>.

El Perú es uno de los países con mayor biodiversidad y con una variedad de plantas medicinales distribuidas en cada región de la costa, sierra y selva; donde actualmente se encuentran realizando investigaciones etnobotánicas con la misión de preservar la especie vegetal y buscar la cura de enfermedades existentes; entre este grupo de plantas empleadas para combatir infecciones bacterianas tenemos a la *Anbrosia peruvian*, *Bixa orella*, *Alchornea castaneifolia*, *teobroma cacao L.*, entre otras<sup>4</sup>.

Las evidencias científicas han demostrado que el cacao (*Teobroma cacao L.*) posee componentes químicos determinantes para el desarrollo de una buena salud por su aporte en hidratos de carbono, proteína, fibra y antioxidante; los compuestos fenólicos que se encuentra en sus hojas, cáscaras, fruto y sobre todo la actividad bactericida frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*<sup>5</sup>.

Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo demostrar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) tiene un efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, y por lo tanto puede ser utilizado como posible preventivo contra este tipo de enfermedades.

## **1.2. Identificación y formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L sobre *Staphylococcus aureus*?

### **1.2.2. Problemas específicos**

- ¿Qué metabolito secundario tiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. responsables del efecto antibacteriano?
- ¿Cuál será la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. que posee efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*?
- ¿Cuál será el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. comparado con ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus*?

## **1.3. Objetivos de la investigación**

### **1.3.1. Objetivo general**

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L sobre *Staphylococcus aureus*.

### 1.3.2. Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) mediante tamizaje fitoquímico.
- Hallar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) que posee efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*.
- Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas *Theobroma cacao* L frente a ciprofloxacino.

### 1.4. Justificación y viabilidad de la investigación

Desde hace varios años, las instituciones de salud han tratado de enfrentar los problemas que desencadenan las enfermedades bacterianas, probando e investigando diferentes alternativas terapéuticas con el fin de erradicar las patologías que siguen creciendo, desde el consumo de extractos de plantas hasta el uso de antibióticos sintéticos como la penicilina, aminoglucósidos, quinolonas, entre otros, que al ser consumidos en exceso e irracionalmente provocan intoxicaciones y posibles resistencias bacterianas<sup>6</sup>.

En el mundo, recientes estudios resaltan la importancia de las diferentes especies vegetales con propiedades fitoquímicas<sup>7</sup>, la gran variedad de bioactivos presentes en la composición química de frutas, vegetales relacionados a las bondades fisiológicas positivas nos proporcionan alternativas viables en patologías relacionadas a cualquier tipo de infección bacteriana<sup>8</sup>.

A nivel nacional el Perú se caracteriza por tener una gran diversidad de recursos vegetales que le permiten brindar de acuerdo a cada nicho ecológico que se caracteriza por tener determinadas especies estudiadas por sus bondades medicinales, siendo investigadas por sus mecanismos de acción positiva.

El cacao (*Theobroma cacao L*) es una de las especies de plantas que cuentan con estudios antibacterianos contra *Staphylococcus epidermis* y *aureus*<sup>9</sup>.

Un estudio in vitro realizado en Indonesia resaltó la importancia de las hojas de cacao (*Theobroma cacao L*), según la investigación realizada, contienen metabolitos secundarios con alto potencial antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*, esta actividad fue determinada por el método de difusión en disco y la fracción de etanol y diclorometano<sup>10</sup>.

Por tal motivo la presente investigación pretende determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de hojas de cacao (*Theobroma cacao L.*) y que sea utilizado como una alternativa para el tratamiento de afecciones generado por este agente bacteriano.

### **1.5. Delimitación de la investigación**

- En la delimitación Espacial: Esta investigación se realizará en una primera fase de colecta de la especie vegetal de la Ciudad de Tarapoto departamento de San Martín.
- En la Delimitación Temporal: El periodo para realizar la investigación será de noviembre a enero del 2022.
- En la delimitación del Universo: Los extractos elaborados del *Theobroma cacao L.*
- En la Delimitación del Contenido: En esta investigación se evalúa el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Theobroma cacao L.*

### **1.6. Limitaciones de la investigación**

- Las limitaciones que se presentaron estuvieron relacionadas a la colecta de la muestra que tuvo dificultades, debido a la coyuntura actual de la pandemia.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la Investigación

#### 2.1.1. Nacionales

**Montenegro M. et. al** (2021) evaluaron el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de las hojas de cacao (*Theobroma cacao*) en diferentes concentraciones de 25%, 50%,75%,100% frente a las cepas de *Escherichia coli* enterohemorrágica, utilizando el método de difusión en pozo, Se obtuvo como resultado que el extracto del 50% no mostro alguna diferencia significativa, pero si tuvieron efecto inhibitorio sobre las cepas de *Escherichia coli* enterohemorrágica<sup>11</sup>.

**Calzada N. et. al** (2021) estudiaron el efecto antibacteriano que produce la cascara de huevo de gallina y la cascara de cacao (*Theobroma cacao*), cumpliendo todos los procesos de bioseguridad y garantizando un buen procedimiento microbiológico y estadísticos, finalmente concluyeron que la pasta de cascara de cacao fue más sensible que la cascara de huevo de gallina mostrando mayor resistencia frente *Streptococo mutans*<sup>12</sup>.

**Capuñay J. et. al** (2019) elaboraron una crema a base de extracto de las hojas de cacao (*Theobroma cacao*) y evaluaron su efecto cicatrizante en ratas albanias (Holzman), durante 15 días la crema fue aplicada en ratas 2 veces por día, entre los 6 grupos de ratas analizadas, el grupo 5 y 6 mostraron mayor efecto cicatrizante en las heridas inducidas con un porcentaje de 90%. Concluyendo que efectivamente las crema a base de hojas tenía efecto cicatrizante debido a su composición química que se encontraron como son los taninos y flavonoides<sup>13</sup>.

**Carrera P.** (2018) Realizaron un estudio in vitro del efecto inhibitorio de la pulpa que recubre las semillas del cacao (*Theobroma cacao*) frente a cepa de *Streptococcus mutans*, las concentraciones estudias fueron de 10%, 20%, 30% y 40%, como control positivo se utilizó clorhexidina al 0.12% y mientras que el control negativo se usó disco con suero fisiológico. Los resultados mostraron una leve capacidad inhibitoria frente *Streptococcus mutans*, concluyendo que la pulpa que recubre la

semilla de cacao no presenta efecto inhibitorio frente a cepas de *Streptococcus mutans*<sup>14</sup>.

### 2.1.2. Internacionales

**Ladignon E. et al.** (2020) elaboraron una crema a partir del extracto acuoso de vaina de *Theobroma cacao L.* y evaluaron su actividad antibacteriana. Tras un cribado fitoquímico previo, los extractos se estudiaron frente a las tres cepas bacterianas. Los resultados mostraron que los extractos crudos de *Theobroma cacao L.* presentaron fracción frente a las tres cepas ( $p < 0,05$ ) y también presentaron actividad antibacteriana frente a las cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis* y *P. aeruginosa*, además de la crema no mostró irritación de la piel y tenía buenos atributos físicos<sup>15</sup>.

**Desvita H. et al.** (2021) realizaron un estudio sobre la actividad antibacteriana del humo líquido de la cáscara de la mazorca de cacao (*Theobroma cacao L.*), utilizaron el método Kirby- Bauer para medir la actividad antibacteriana, el humo fue pirolizado a 300°C, 340°C, 380°C y tuvo una variación del 1% a 5%. Concluyeron que las bacterias estudiadas son sensibles al humo líquido, pero *E. coli* tuvo más resistencia en comparación a las otras bacterias, por lo tanto, el humo líquido del cacao puede utilizarse como agente inhibidor de microorganismo en los alimentos<sup>16</sup>.

**Maajid M. et al** (2021) evaluaron la actividad bacteriana del extracto de frijol del cacao (*Theobroma cacao L.*) fermentado y no fermentado contra *Porphyromonas gingivalis*, las concentraciones de extractos no fermentados fueron de 1%, 2%, 3% y también las concentraciones de extractos fermentados fueron 1%, 2%, 3%. Como control positivo se usó clorhexidina y como control negativo al aquadest. Basados en los resultados del estudio, concluyeron que los extractos sin fermentación tuvieron mayor actividad antibacteriana que los extractos fermentados frente a la bacteria *Porphyromonas gingivalis*<sup>17</sup>.

**Hasanuddin A. et al** (2019) evaluaron la actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) con maltodextrina en diversas concentraciones, el diseño metodológico aplicado fue al azar (CRD) en 5

tratamientos concentración de maltodextrina al 20%, 30%, 40%, 50% y 60% se repitió en 3 ocasiones. Finalmente, los investigadores concluyeron que los extractos de la cascara de cacao con maltodextrina al 20% obtuvo mayor actividad antimicrobiano y antioxidante que en las demás concentraciones, por lo tanto, cabe la posibilidad que los extractos de cascara pueda ser utilizado como conservante natural en forma de encapsulante<sup>18</sup>.

**Diniardi E. et al** (2019) realizaron un estudio sobre la actividad antibacteriana del extracto fenólico de la cascara de la mazorca de cacao para procesamientos alimentarios, los compuestos fenólicos de la planta se extrajeron utilizando el método por asistida microondas (MAE) y fueron aprobados con el método de difusión en disco en concentraciones de 5, 7.5, 10 mg/ mL. Resultados mostraron que la concentración de 5mg/mL tenía mayor capacidad antibacteriana frente a *Escherichia coli*<sup>19</sup>.

**Ramadhanie C. et al.** (2020) estudiaron la eficacia *in vitro* del extracto etanólico de la cáscara de cacao frente a *streptococcus pynogenes*, para conocer los resultados MIC y MBC utilizaron el método de dilución *in vitro*. Los resultados de Concentración Mínima Bactericida (MBC) fue de 12,5% frente al crecimiento bacteriano de la *streptococcus pynogenes*, por lo tanto, se comprueba que la cascara de cacao fue bastante efectiva en aumento *in vitro* de las bacterias de *streptococcus pynogene*<sup>20</sup>.

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1 Theobroma cacao L. (cacao)

Conocidas también en varias regiones nativas de América como cacaotero o cacao; la importancia de esta planta radica por su valor económico, social y en la salud, sin olvidar las múltiples especies existentes<sup>21</sup>. En el ranking mundial de producción económica, la posición del cacao se encuentra entre los primeros lugares, después del petróleo y el café<sup>22</sup>.

Nombre Científico:	<i>Theobroma Cacao</i>
Reino	: <i>Plantae</i>
Subreino	: <i>Tracheobionta</i>
División	: <i>Magnoliophyta</i>
Clase	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclase	: <i>Dilleniidae</i>
Orden	: <i>Malvales</i>
Familia	: <i>Malvaceae</i>
Tribu	: <i>Theobromeae</i>
Género	: <i>Theobroma</i>
Especie	: <i>Theobroma Cacao L.</i>

**Figura1. Taxonomía de Theobroma cacao L. (cacao)**

### 2.2.2 Botánica y ubicación geográfica de la especie vegetal

El género *Theobroma L.* es parte de la familia *Malvaceae*, sus flores hermafroditas están conformada por cinco sépalos, pétalos y estambres cuya forma es de simetría radiada, el color de sus hojas adultas es coráceas verdes donde aproximadamente cada tres meses brotan nuevas hojas, los frutos o llamados también mazorcas según la especie puede variar en la forma, color, espesor y tamaño. A medida que va madurando el fruto presenta cambio de color de amarillo, café amarillento a anaranjado en su etapa final de maduración<sup>23</sup>.



La zona geográfica lluviosa donde prevalecen los bosques tropicales son factores que favorecen su crecimiento<sup>24</sup> actualmente podemos encontrar sus cultivos en América, Asia, África hasta el caribe, así mismo en el Perú se ha registrado más de 7 departamentos implicados en la producción de esta planta, entre lo más importantes tenemos Junín, Loreto, Madre de Dios y San Martín<sup>25</sup>.



**Figura2. Hojas de Theobroma cacao L. (cacao)**

### **2.2.3. Usos y propiedades**

Las propiedades que se le atribuyen al cacao (*Theobroma cacao L*), basados en estudios y medicinal tradicional está relaciona prevenir y combatir infecciones intestinales, enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y metabólicas; siendo los compuestos fenólicos los que otorgan las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias<sup>26</sup>.

Actuales estudios valoran todos los beneficios que aporta cada parte de la planta, desde sus hojas hasta la cáscara del fruto. Para contribuir con la naturaleza y evitar el desperdicio de residuos de la cáscara del cacao (*Theobroma cacao L*), hubo un estudio que convierte en polvo la cáscara reciclada con el fin de implementar al consumo humano debido a su alto grado de proteínas, grasas y antioxidante;

además este estudio tiene intención de impulsar y desarrollar nuevos productos que aportan en la nutrición y mejor calidad de vida<sup>27</sup>.

Otra investigación realizada sobre los extractos etanólicos de las hojas de cacao (*Theobroma cacao L*), presentó un efecto inhibitorio contra *Escherichia coli* enterohemorrágica, demostrando su potencial antibacteriano un posible tratamiento para dichas enfermedades bacterianas<sup>28</sup>.

#### **2.2.4. Bacteria *Staphylococcus aureus***

La bacteria grampositiva *Staphylococcus aureus* es el causante de varias enfermedades infecciosas que pueden adquirirse en los hospitales y en la misma comunidad, infecciones bacterianas como neumonía, bacteriemia, infecciones epidérmicas, entre otras, acechan en contra de la salud del ser humano. Además, el *Staphylococcus aureus* tiene la característica de medir aproximadamente 0,8 µm para crecer en lugares con pH 7,4 ya 37°C; En las pruebas microbiológicas se observa un anillo hemolítico alrededor de las colonias en placas de agar sangre y también son positivas para *Staphylococcus aureus* en fermentaciones lactosa y desoxirribonucleica<sup>29,30</sup>.

El estudio para el tratamiento contra el *Staphylococcus aureus* está liderado por la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA), que sugiere el uso de antibióticos de primera línea como vancomicina o daptomicina, incluyendo dosis altas de daptomicina en combinación con trimetoprima-sulfametoxazol, gentamicina y la rifampicina puede ser útil; sin embargo, las limitaciones y la falta de investigación en estudios comparativos de estos antibióticos están relacionadas con la aparición de cepas resistentes y nefrotoxicidad<sup>31</sup>.

## 2.3. Formulación de hipótesis

### 2.3.1. Hipótesis general

- El extracto hidroalcohólico de las hojas *Theobroma cacao L* tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*.

### 2.3.2. Hipótesis específica

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L* tiene metabolitos secundarios.
- Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L*, que posee efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L* tiene efecto antibacteriano en comparación con ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus*.

## 2.4. Operacionalización de variables e indicadores

Operacionalización de variables		
Variable independiente	Dimensión	Indicadores
<i>El extracto hidroalcohólico de las hojas Theobroma cacao L.</i>	Fitoquímica	Tamizaje Fitoquímico
Variable dependiente	Dimensión	Indicadores
Efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	Microbiológica	Medición del diámetro de inhibición

## 2.5. Definición de términos básicos

**Metabolitos secundarios:** Es una sustancia química producida por reacciones catalizadas dentro un proceso metabólico generado por las células y que deben cumplir ciertas características para ser llamados metabolitos<sup>32</sup>.

**Extracto hidroalcohólico:** Es un extracto sólido que extrae los principios activos solubles de la droga en presencia de los disolvente alcohol y agua que conforma la solución hidroalcohólica<sup>33</sup>.

**In vitro:** Los estudios *in vitro* son pruebas realizadas en un laboratorio, que no se desarrollan en seres vivos o tejidos aislados<sup>34</sup>.

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo de investigación

- Áreas de aplicación: *Teobroma cacao* L. aplicativo, descriptivo, para evaluar la actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de hojas.
- Respecto a ese enfoque: Es cuantitativo, la investigación nos permite obtener datos para el análisis estadístico de la actividad antibacteriana.
- Sobre la Temporalidad: de tipo transversal porque transcurre en un tiempo determinado.

### 3.2. Diseño de la investigación

- El diseño del estudio pertenece al experimental debido a que se han manipulado las variables independientes.

### 3.3. Población

- **Población vegetal:**

Especie vegetal de *Teobroma cacao L (cacao)*, fue colectada en el departamento de Tarapoto en la provincia de San Martín, ubicada a una altura de 350 m.s.n.m.

- **Población microbiológica:**

Microorganismos bacterianos de *Staphylococcus aureus*

#### Muestra

- **Muestra vegetal:**

3 kg de hojas de *Teobroma cacao L (cacao)*.

- **Muestra microbiológica:**

Cepas estandarizadas:

- *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923)



**Anexo1: Recolecta de las hojas *Teobroma cacao L (cacao)***

### 3.3.1. Preparación de la muestra

Se recolectó y se seleccionó 3 kg de hoja de *Theobroma cacao L (cacao)* en la ciudad de Tarapoto, Departamento de San Martín, a una altitud de 350 m.s.n.m, el 26 de noviembre del 2021 entre las horas de las 6 am a 8 am. Se lavó las hojas seleccionadas con agua destilada, luego se puso en papel kraft para ser secadas en la estufa a una temperatura de 40°C durante 48 horas, para después ser molidas a mano y con el apoyo de un mortero hasta obtener partículas de polvo y obteniendo 1500 gr de hojas secas en polvo.

### 3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)*

Para la elaboración del extracto hidroalcohólico se pesó 500 gr de muestra donde posteriormente se adicionó a un frasco color ámbar para su maceración, se agregó etanol 70%, durante 7 días en constante agitación diaria por 2 minutos, Finalmente pasó por un proceso de filtración con papel Whatman N°41 y evaporación del alcohol en una estufa de 40° C hasta la obtención del extracto seco con una cantidad de 126 gr obtenido de la muestra.

### 3.3.3. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico

Se pesó 2 gr del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* y se disolvió en 10 mL de etanol, luego se agregó 0.5 mL del extracto hidroalcohólico en 5 tubos de ensayo. Se rotuló y realizó el ensayo del tamizaje fitoquímico para la obtención de los metabolitos.

Tubo	Reactivos	Procedimiento	Metabolitos	reaccion
N°1	<b>Shinoda</b>	Limadura de Mg + HCl [ ]	Flavonoides	rojos - naranja
N°2	<b>Lieberman - buchard</b>	0.5 mL CHCl <sub>3</sub> . + II gts ácido acético	Esteroides y triterpenos	verde - azul
N°3	<b>Wagner</b>	II gts HCl 10 % + II gts de reactivo	Alcaloides	blanco
N°4	<b>Dragendorff</b>	II gts HCl 10 % + II gts de reactivo	Alcaloides	rojo
N°5	<b>Mayer</b>	II gts HCl 10 % + II gts de reactivo	Alcaloides	marron

**Tabla1: Tamizaje fitoquímico**

### 3.3.4. Obtención del extracto hidroalcohólico para el efecto antibacteriano

Se entregó 1 kg al “Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru” para el tratamiento de la muestra donde se desarrolló el análisis para la actividad antibacteriana, se preparó en concentraciones de 10%, 25%, 50% y 75%.

Extracto al 75% se pesó 7.5 gr del extracto seco y se enrazo con etanol al 70% en un matraz aforado de 10 ml (frasco madre)

$$\% \frac{7.5 \text{ gr}}{10 \text{ ml}} \times 100 = 75\%$$

- Extracto al 50% se tomó 2.0 ml del extracto del 75 % (frasco madre) y se adicionó un 1.0 ml de etanol al 70% en un tubo.
- Extracto al 25% se tomó 2.0 ml del extracto del 75 % (frasco madre) y se adicionó un 4.0 ml de etanol al 70% en un tubo.
- Extracto al 10% se tomó 2.0 ml del extracto del 75 % (frasco madre) y se adicionó un 5.2 ml de etanol al 70% en un tubo.

Se realiza el mismo procedimiento del ensayo microbiológico para hallar el efecto antimicrobiano según la escala de Duraffourd.

<b>Nula</b>	<b>-</b>	<b>Menor o igual a 8 mm</b>
<b>Sensible</b>	<b>+</b>	<b>9 – 14 mm</b>
<b>Muy sensible</b>	<b>++</b>	<b>15 – 19 mm</b>
<b>Sumamente sensible</b>	<b>+++</b>	<b>Mayor o igual a 20 mm</b>

**Figura2: Escala de Duraffourd para determinar el efecto inhibitorio según el diámetro de inhibición**

### **3.3.5. Ensayo microbiológico**

#### **Preparación del estándar 0.5 de McFarland**

Se preparo una solución de cloruro de bario ( $\text{BaCl}_2$ ) 0.048 M y para ello, se pesó 0.499 g de cloruro de bario y posteriormente fue disuelto con agua destilada en un matraz aforado de 50 mL. Se preparó una solución de ácido sulfúrico 0.18 M y para ello, se disolvió 1.01 mL de ácido sulfúrico concentrado en un matraz aforado de 100 mL. El estándar 0.5 de McFarland fue obtenido disolviendo 0.5 mL de la solución de cloruro de bario 0.048 M con 95.5 mL de ácido sulfúrico 0.18M.

#### **Preparación del inocular**

Se tomó una Asa de siembra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en un caldo nutritivo luego se diluyo hasta conseguir la turbidez en comparativo con el tubo la escala 0.5 de McFarland.

#### **Sembrado**

Se tomó una Asa de siembra, se llevó al mechero para su esterilización, se tomo una pequeña muestra de la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se inoculo en el caldo nutritivo.

Se toma hisopo estéril eliminando el exceso del caldo nutritivo presionando la pared interna del tubo, luego se realizo el sembrado en la placa con Agar Mueller Hinton a una altura de 10 cm a la llama del mechero rotando la placa Petri en forma estriada donde no queden espacios vacíos, se repitió 3 veces y se dejo secar de 3 a 5 minutos

#### **Preparación de los discos**

Se prepararon 5 discos de papel filtro estériles de 6 mm y se adiciono 10 uL de cada una de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao): al 10%, 25%, 50% y 75%. Se dispuso de un control positivo de ciprofloxacino (5 ug) y en un papel filtro para el control negativo con etanol al 70%



## **Incorporación de los discos en las placas con la cepa bacteriana**

Con una pinza de acero inoxidable estéril se incorporó los discos en un tiempo no menor a 10 minutos, presionándolos levemente para que queden adheridos a la placa, teniendo en cuenta con una separación mínima desde el borde de la placa de 15 mm el proceso de desarrollo a un diámetro de distancia de 10 cm de la llama del mechero, luego las placas se invierten y se incuban a 35°C durante 18 horas.

### **3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.5.1. Materiales equipos y reactivos**

Material botánico

- *Theobroma cacao* L (cacao)

Materiales

- Beakers de 25, 50,100 mL (Fortuna)
- Probetas de 50,100 ml (Pirex)
- Papel de kraf
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Hisopos de madera estéril
- Espátulas
- Mango de siembra
- Discos de antibiograma
- Papel filtro Whatman
- Asa de siembra
- Pinza de acero inoxidable
- Vernier

Equipos

- Autoclave
- Incubadora
- Balanza electrónica (Pracctum 224 – 1S)

Reactivos

- Etanol absoluto (Merck)
- Agar Muller Hinton 500g
- Caldo Nutritivo 500g
- Shinoda
- Liberman – buchard
- Wagner
- Dragendorff
- Mayer

### **3.5.2. Técnicas para el procesamiento de datos**

#### **Tamizaje fitoquímico**

El tamizaje fitoquímico del extracto de hojas de *Theobroma cacao L.* (cacao), basado en la metodología descrita por Olga Lock, actualmente estos procesos están contribuyendo al avance de varios estudios científicos relacionados con el reino vegetal y la extracción de sus metabolitos<sup>35</sup>.

#### **Método de difusión por discos**

La difusión de discos o en pozo es uno de los métodos más utilizados en la evaluación de la actividad antibacteriana aplicando el ensayo Kirby-Bauer, Se realizaron dos discos con diámetro de 6mm donde se introdujo la muestra problema (extracto vegetal) y los controles (antibiótico), luego se incubaron en 35°C por 18 horas, al finalizar el estudio con el uso de vernier digital empezaron a medir los halos de inhibición<sup>36,37</sup>.

#### **3.4.1. Instrumentos de recolección de datos**

Para la recopilación de los datos de la presente investigación se utilizaron las fichas de observación ad hoc. A partir de los datos obtenidos del efecto antibacteriano los resultados serán procesados mediante el programa Microsoft Excel para poder obtener los resultados estadísticos.

### **3.5. Técnicas para el procesamiento de datos**

Para la recopilación de los datos de la presente investigación, se utilizaron las fichas de observación.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS

### 4.1. Presentación de resultados

Tabla 2. Resultados de la Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao)

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>theobroma cacao</i> L		RESULTADOS			
REACTIVOS	IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS	10%	25%	50%	75%
Shinoda	Flavonoides	++	++	++	+++
Liberman – Buchard	Esteroides y triterpenos	++	++	+++	++++
Wagner	Alcaloides	+	++	+++	+++
Dragendorff	Alcaloides	++	++	+++	+++
Mayer	Alcaloides	++	++	++	+++

Fuente: Elaboración Propia

#### Leyenda:

- (+) = poca presencia
- (++) = presente
- (+++)= abundante
- (++++)= muy abundante.

Se observan los resultados de los metabolitos presentes en las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao).

**Tabla 3. Resultado de halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus***

PLACA PETRI	HALOS DE INHIBICIÓN (mm) FRENTE A LA CEPA DE <i>Staphylococcus aureus</i>					
	CONTROL DE ETANOL 70 % (-)	EXTRACTO AL 10 %	EXTRACTO AL 25 %	EXTRACTO AL 50 %	EXTRACTO AL 75 %	CIPROFLOXACINO 5 µg (+)
1	6	10.26	12.37	18.52	24.32	32.81
2	6	10.27	12.32	18.64	24.38	32.65
3	6	10.39	12.48	18.47	24.49	32.77
4	6	10.34	12.49	18.42	24.56	32.92
5	6	10.21	12.36	18.63	24.34	32.64
6	6	10.29	12.45	18.71	24.29	32.87
<b>PROMEDIO</b>	<b>6.00</b>	<b>10.29</b>	<b>12.41</b>	<b>18.57</b>	<b>24.40</b>	<b>32.78</b>
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	<b>0.00</b>	<b>0.06</b>	<b>0.07</b>	<b>0.11</b>	<b>0.11</b>	<b>0.11</b>

**Fuente: Elaboración Propia**

Se muestran los valores de los halos de inhibición de distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Theobroma cacao* L. (cacao) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Tabla 4. Resultado de los Porcentajes de inhibición respecto al control positivo (ciprofloxacino) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) sobre el *Staphylococcus aureus*.**

PLACA PETRI	PORCENTAJE (%) DE INHIBICIÓN RESPECTO AL CIPROFLOXACINO					
	CONTROL DE ETANOL 70 % (-)	EXTRACTO AL 10 %	EXTRACTO AL 25 %	EXTRACTO AL 50 %	EXTRACTO AL 75 %	CIPROFLOXACINO 5 µg (+)
1	0	15.89	23.76	46.70	68.33	100
2	0	16.02	23.71	47.43	68.97	100
3	0	16.40	24.21	46.58	69.07	100
4	0	16.12	24.11	46.14	68.95	100
5	0	15.80	23.87	47.41	68.84	100
6	0	15.97	24.00	47.30	68.07	100
<b>PROMEDIO</b>	<b>0.00</b>	<b>16.03</b>	<b>23.94</b>	<b>46.93</b>	<b>68.71</b>	<b>100.00</b>
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	<b>0.00</b>	<b>0.21</b>	<b>0.20</b>	<b>0.53</b>	<b>0.41</b>	<b>0.00</b>

**Fuente: Elaboración Propia**

Se observa la cantidad en porcentaje del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) y el efecto inhibitorio produce cada concentración con respecto al ciprofloxacino (control positivo) donde las concentraciones del 10, 25, 50 y 75% tenían un promedio de porcentaje inhibitorio 16.03%, 23.94%, 46.93% 68.71 % frente la cepa de bacteriana de *Staphylococcus aureus*. Dato a mencionar que el ciprofloxacino (control positivo) tenía un efecto inhibidor frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## 4.2. Contrastación de hipótesis

La hipótesis principal corresponde a:

El extracto hidroalcohólico de las hojas *Theobroma cacao L* tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29523

Debido a las variables de medición, está se subdivide en hipótesis específicas.

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* tiene metabólicos secundarios.
2. Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* que posee efecto antibacteriano sobre *staphylococcus aureus*.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* tiene efecto antibacteriano en la comparación con ciprofloxacino sobre *staphylococcus aureus*.

### A. Contrastación de hipótesis específica 1

**H<sub>0</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* no tiene metabólicos secundarios.

**H<sub>1</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* tiene metabólicos secundarios.

El ensayo de tamizaje fitoquímico realizado con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao L. (cacao)* revelo la presencia de flavonoides, esteroides, triperpenos y alcaloides.

**Decisión:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) presenta metabolitos secundarios como flavonoides, esteroides, triperpenos y alcaloides. Se niega la hipótesis nula.

## B. Contrastación de hipótesis específica 2

**H<sub>0</sub>:** Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) que no posee efecto antibacteriano sobre staphylococcus aureus.

**H<sub>1</sub>:** Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) que posee efecto antibacteriano sobre staphylococcus aureus.

Los resultados fueron interpretados según la escala de Duraffourd para la determinar el efecto inhibitorio según el diámetro de inhibición.

	EXTRACTO AL 10 %	EXTRACTO AL 25 %	EXTRACTO AL 50 %	EXTRACTO AL 75 %
NULA	-			
SENSIBLE		+		
MUY SENSIBLE			++	
SUMAMENTE SENSIBLE				+++

Fuente: Elaboración Propia

**Tabla5: Resultados interpretados según la escala de Duraffourd**

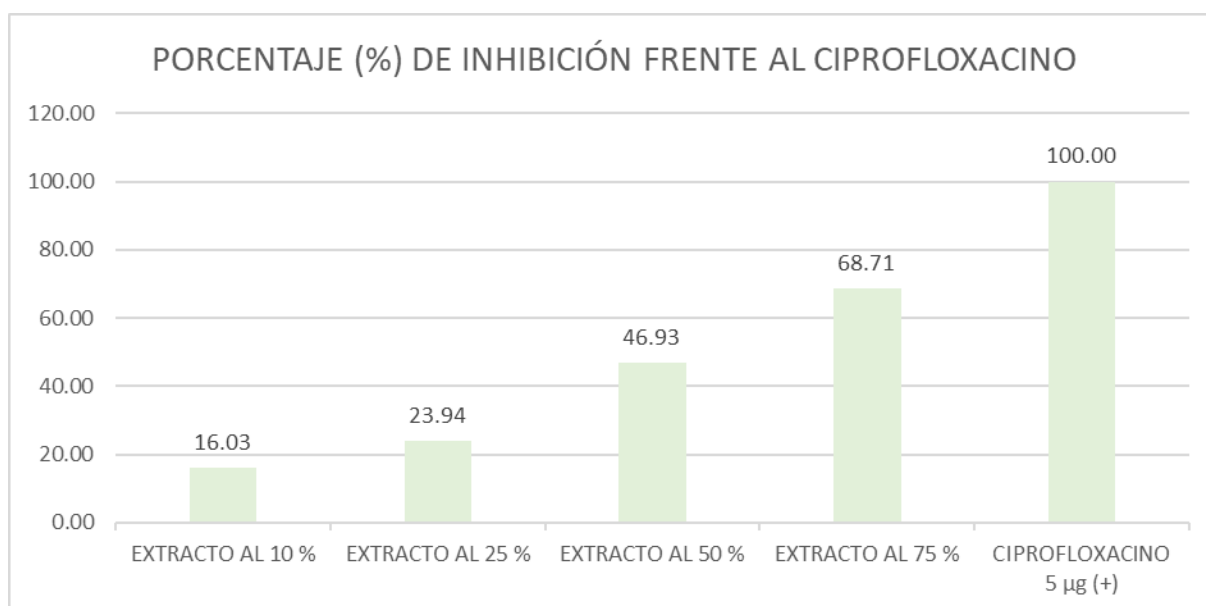
**Decisión:** según la tabla2 evidencia que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) que posee efecto antibacteriano sobre staphylococcus aureus. Se niega la hipótesis nula

### C. Contrastación de hipótesis específica 3

**H<sub>0</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L.(cacao) tiene no efecto antibacteriano en la comparación con ciprofloxacino sobre *staphylococcus aureus*

**H<sub>1</sub>:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L.(cacao) tiene efecto antibacteriano en la comparación con ciprofloxacino sobre *staphylococcus aureus*

Según la tabla describe los datos en porcentaje de cada concentración estudiada al 10%, 25%, 50%, 75% extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L.(cacao) comparado con Ciprofloxacino sobre *staphylococcus aureus*.



**Fuente: Elaboración Propia**

**Tabla6: Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L.(cacao) comparado con Ciprofloxacino sobre *staphylococcus aureus*.**

**Decisión:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L.(cacao) tiene efecto antibacteriano en la comparación con ciprofloxacino sobre *staphylococcus aureus*. Se niega la hipótesis nula.



### 4.3. Discusión de resultados

En base a los resultados de la evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) por el método de difusión en agar, se preparó cuatro concentraciones diferentes al 10%, 25%, 50% y 75%.

Al realizar el tamizaje fitoquímico en la tabla N1, se determinó la presencia de los resultados de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) como flavonoides, esteroides, triterpenos y alcaloides.

En el ensayo antimicrobiano en la tabla N2, se observó que la medida en los halos de inhibición (mm) promedio de 10.29 mm, 12.41 mm, 18.47 mm y 24.40 mm respectivamente frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; el extracto de concentración al 75% obtuvo una mayor sensibilidad antibacteriana debido a que se encuentra entre el rango de sensibilidad antimicrobiana descrita en el manual microbiológico del instituto nacional de salud, mientras que en la investigación de Mandhaki N<sup>38</sup> evaluaron la actividad antibacteriana in vitro de las hojas de cacao mediante métodos de fraccionamiento y difusión en disco. Los resultados mostraron que su mayor halo de inhibición fue  $33 \pm 0.577$  sobre n-hexano, teniendo como control positivo cloranfenicol, a diferencia de nuestro estudio que fue ciprofloxacino (control positivo) que obtuvo una menor medida de inhibitoria. El mismo estudio sobre *Theobroma cacao* L. realizado por Yuantla T<sup>39</sup> evaluaron la eficacia antibacteriana de la cáscara de *Theobroma cacao* L. contra *Staphylococcus aureus*. Los resultados mostraron que el extracto al 6% tenía un diámetro promedio de 11,52 mm. En comparación con nuestro estudio, nuestros valores de halo de inhibición fueron mucho más altos.

La tabla 3 los porcentaje inhibitorios que existe en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. con respecto al ciprofloxacino son 16.03%, 23.94%, 46.93% y 68.71% con las misma concentraciones que se muestran en la tabla demostrando su efecto antibacterian cvx o, términos usados de manera similar en el estudio de Sandoval A<sup>40</sup> sobre las hojas

de frutas amazónicas y su potencial antibacteriano en bacterias gramnegativas y grampositivas que brindan sus metabolitos secundarios en estas especie vegetales pero otras investigaciones como la que realizo Fajardo L<sup>41</sup> en la actividad antibacteriano de los clones UF-650 del extracto hidroalcohólico del *Theobroma cacao* L. (cacao) destacan los pocos estudios que existen actualmente sobre las propiedades antibacterianas de *Theobroma cacao* L. (cacao), así como el importante papel de metabolitos secundarios como flavonoides, esteroides, triterpenos y alcaloides.

## **CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1. Conclusiones**

- Se determinó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) tenía actividad antibacteriana frente la bacteria *S. aureus*.
- Se detecto la presencia de los metabolitos secundarios el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) como esteroides, triterpenos, alcaloides y flavonoides.
- Se detecto que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L. (cacao) a la concentración del 75% tenía una mayor actividad antibacteriano frente *S. aureus* con un promedio de halo de inhibición de 24.40 mm
- En la comparación con el ciprofloxacino 5ug con el extracto hidroalcohólico de las hojas *Theobroma cacao* L. (cacao), el extracto de concentración al 75% tuvo un alto nivel inhibición con un 68.70%

### **5.2. Recomendaciones**

Realizar, promover y profundizar investigaciones sobre las partes de la planta del *Theobroma cacao* L. (cacao) y sus propiedades benefactorías que tienen sus metabolitos para salud del ser humano.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Rodríguez C, Ramirez, J, Villarreal V, Arevalo, S. Agracejo: Muchas especies, escasa información etnobotánica y etnofarmacológica. *Ethnobotany Research and Applications*, 19, 1-12.2020. Disponible en: <https://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/1819>
2. Lozada A et al. Antibacterial Activity of Santan (Ixora coccinea) Leaf, Cacao (Theobroma cacao) Pod Husk and Betel Palm (Areca catechu) Seed Extracts Against Staphylococcus aureus. *IMCC Journal of Science* 1.1: 20-31.2021. Disponible en: <https://myjournal.imcc.edu.ph/publication/volume-1-issue-1-2021/antibacterial-activity-of-santan-cacao-betel-palm/>
3. Yunlei G. et al. "Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in Staphylococcus aureus." *Frontiers in cellular and infection microbiology* 10: 107. 2020. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.00107/full>
4. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. Ginebra; 2020. [acceso: 20/04/2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobialresistance>
5. Carmona F, Del Pozo J. "Tratamiento de las infecciones por Staphylococcus aureus." *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* 12.49 (2018): 2918-2923. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030454121830026X>
6. Gamero M. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts "panizara" en cepas de *Salmonella enterica typhimurium* in vitro. [Tesis de pregrado para optar el título de Químico Farmacéutico y Bioquímico] Lima. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2019. Disponible en: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/4537/TESIS\\_GAMERO\\_MART%c3%8dNEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/4537/TESIS_GAMERO_MART%c3%8dNEZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
7. Quezada M, Gamarra O, Azahuanche F, Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de seis plantas medicinales usadas en Amazonas. *Medicina naturista*, 2021, vol. 15, no 1, p. 32-37. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7747848>
8. Lourdes M, Brito H, Cortez J. Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos. *Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva* 26.2 (2019). Disponible en: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/104/10458194006/10458194006.pdf>
9. Lestari, H, Asri M. "Actividad antibacteriana del extracto de cáscara de fruta de cacao (*Theobroma cacao* L.) contra *Staphylococcus epidermidis*". (2021): 302-308. Disponible en: <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/article/view/12284>

10. Mandhaki N, Huda, C, Putri, A. Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro: Antibacterial Activity of Cocoa Leaf Fraction (*Theobroma cacao* L.) against *Staphylococcus aureus* Bacteria by In Vitro. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(2), 188-193.2021 Disponible en: <https://jsk.farmasi.unmul.ac.id/index.php/jsk/article/view/269>
11. Yuanita T, Ceson, M, Subiyanto, A. Differences in Effectiveness of Antibacterial Power Between Cocoa Peel Extract (*Theobroma cacao* L.) and Benzalkonium Chloride 0.1% Against *Staphylococcus aureus* (In Vitro). *Conservative Dentistry Journal*, 11(2), 56-61. 2021. Disponible en: <https://www.e-journal.unair.ac.id/CDJ/article/view/31783>
12. Sandoval A. et al. Hydroalcoholic Extracts of Fruit Leaves from the Peruvian Amazon as Antibacterial Potential of Gram-negative and Gram-positive Bacteria. *Chemical Engineering Transactions*, vol. 79, p. 319-324.2020. Disponible en: <https://www.cetjournal.it/index.php/cet/article/view/CET2079054>
13. Sandoval A. et al. Hydroalcoholic Extracts of Fruit Leaves from the Peruvian Amazon as Antibacterial Potential of Gram-negative and Gram-positive Bacteria. *Chemical Engineering Transactions*, vol. 79, p. 319-324.2020. Disponible en: <https://www.cetjournal.it/index.php/cet/article/view/CET2079054>
14. Fajardo L., et al. "Phytochemical screening, quality control and antibacterial activity of the UF-650 clone in *Theobroma cacao* L.(cocoa) extracts." *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 23.1.2018. Disponible en: <https://www.cabdirect.org/globalhealth/abstract/20203431332>
15. Mandhaki, N, Choirul H, Amalia E. "Aktivitas ANTibakteri Fraksi Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro." *Jurnal Sains dan Kesehatan* 3.2:188-193. (2021) Disponible en: <https://jsk.farmasi.unmul.ac.id/index.php/jsk/article/view/269>
16. Segura Cotrina, Yolanda, and Maria Oferlinda Montenegro Maldonado. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Theobroma Cacao* | "Cacao" sobre *Escherichia Coli* Enterohemorrágica (ekeh)–2021. Diss. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, 2021. Disponible en: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/420/TESES%20%20YOLI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
17. Calzada Gonzales, Nancy Doris. "EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA PASTA DE CÁSCARA DE HUEVO Y CÁSCARA DE CACAO FRENTE AL ESTREPTOCOCO MUTANS HUÁNUCO 2020. ESTUDIO IN VITRO." (2021). Disponible en: <http://distancia.udh.edu.pe/bitstream/handle/123456789/2846/Calzada%20Gonzales%20Nancy%20Doris.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

18. Capuñay Pesfil, Julio Cesar, and Sonia Virginia Quisocala Limachi. "Elaboración de una crema con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Theobroma cacao* L.(cacao) para evaluar su actividad cicatrizante en ratas albinas (Holtzman)." (2021).
19. Carrera Quizhpe, Paul Alexander. Efecto inhibitorio de la pulpa que recubre las semillas del cacao (*Theobroma Cacao*) a diferentes concentraciones sobre la cepa de *Streptococcus mutans*: Estudio in vitro. BS thesis. Quito: UCE, 2018. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15186/1/T-UCE-0015-907-2018.pdf>
20. Ladignon, Ethel Andrea C., and Jocelyn S. Bautista-Palacpac. "Antibacterial Activity of the Cream Preparation from *Theobroma cacao* L. Pod Aqueous Extract." *Acta Medica Philippina* 54.1 (2020). Disponible en: <https://actamedicaphilippina.upm.edu.ph/index.php/acta/article/view/1090>
21. Desvita, H., et al. "Preliminary study on the antibacterial activity of liquid smoke from cacao pod shells (*Theobroma cacao* L)." *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. Vol. 1098. No. 2. IOP Publishing, 2021.
22. MAAJID, Mulki Nur; SUTJIATI, Rina; JOELIJANTO, Rudi. Antibacterial Activity of Fermented and Non-Fermented Edel Cacao Bean Extract (*Theobroma Cacao* L.) Against *Porphyromonas gingivalis*. *Health Notions*, 2021, vol. 5, no 8, p. 289-294. Disponible en: <http://heanoti.com/index.php/hn/article/view/740>
23. Hasanuddin, A., K. Anwar, and M. Mappatoba. "Antibacterial And Antioxidant Activities Of Ethanol Extracts Of Cocoa Husk (*Theobroma cacao* L.) With Maltodextrine In Various Concentration." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Vol. 255. No. 1. IOP Publishing, 2019. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/255/1/012017/meta>
24. Diniardi, E. M., B. D. Argo, and Y. Wibisono. "Antibacterial activity of cocoa pod husk phenolic extract against *Escherichia coli* for food processing." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Vol. 475. No. 1. IOP Publishing, 2020.
25. Ramadhania, Cynthia Dwi, Sri Purwaningsih, and Eko Budi Koendhori. "Effectivity of Cacao Rind Ethanol Extract in Inhibiting *Streptococcus Pyogenes* Growth In Vitro." *JUXTA: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Universitas Airlangga* 11.1 (2020): 6-8. Disponible en: <https://www.e-journal.unair.ac.id/JUXTA/article/view/16433/9724>
26. Guerrero, Raquel, et al. "Extractos vegetales: una alternativa para el control de enfermedades en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao*). 2020. *Ingeniería e Innovación* 8.1 Disponible en: <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/rri/article/view/2326/2914>

27. Reyes Velasco, Jossette Andrea. LA COMERCIALIZACIÓN DEL CACAO Y SU IMPACTO ECONÓMICO EN EL CANTÓN QUININDÉ PERIODO 2015-2020. BS thesis. Jijpajapa. UNESUM, 2021.
28. ROJAS SOSA, Johanna Marleny; ROJAS MANAYAY, Erick David. Aprovechamiento del mucílago de cacao (*Theobroma cacao*) en la formulación de una bebida no alcohólica. 2018. Disponible en: <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/2684/BC-1532%20ROJAS%20SOSA-ROJAS%20MANAYAY.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
29. JUSTO DOMINGUEZ, Luis Eduardo. Caracterización botánico-agronómica de seis clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) de la colección mendis paredes en Castillo Grande. 2019. Disponible en: [http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/1659/TS\\_LEJD\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed](http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/1659/TS_LEJD_2019.pdf?sequence=1&isAllowed)
30. BARTRA RIVERA, WILLS GEERAL. Efecto de la procedencia HMA, dosis de inoculación y fertilización en el desarrollo de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en etapa de vivero. 2019. Disponible en: <http://repositorio.unia.edu.pe/bitstream/unia/201/1/TESIS%20FINAL.pdf>
31. QUIÑONES GÁLVEZ, Janet, et al. Potencial de actividad antioxidante de extractos fenólicos de *Theobroma cacao* L. (cacao). Revista cubana de plantas medicinales, 2013, vol. 18, no 2, p. 201-215.
32. Álvarez Abad, Karla, and Francisco Quilumba Ayala. Aprovechamiento de la cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) para la elaboración de polvo y sus usos culinarios. BS thesis. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química., 2018. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/35658/1/TESIS%20Gs.%20262%200-%20Aprovechando%20cascarilla%20de%20cacao.pdf>
33. Segura Cotrina, Yolanda, and Maria Oferlinda Montenegro Maldonado. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Theobroma Cacao* I "Cacao" sobre *Escherichia Coli* Enterohemorrágica (ekeh)–2021. Diss. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, 2021. <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/420/TESS%20%20YOLI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
34. Guo Y, Song G, Sung M, Wang J. "Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*." *Frontiers in cellular and infection microbiology* 10: 107. (2020) Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.00107/full>
35. Schulte R, Munson E. (2019). *Staphylococcus aureus* resistance patterns in wisconsin: 2018 surveillance of wisconsin organisms for trends in antimicrobial resistance and epidemiology (SWOTARE) program report. *Clin. Med. Res.* 17, 72–81. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31582419/>

36. Lewis P, Heil E, Covert, K, Cluck, D. Treatment strategies for persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 43(5), 614-625. (2018) Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jcpt.12743>
37. Cocotle Y, Minerva L, Alma L. Guía de prácticas de bioquímica metabólica. Universidad Veracruzana. Facultad de Química Farmacéutica Biológica. 2020. Disponible en: <https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Bioquimica-Metabolica-Laboratorio.pdf>
38. Pita J. Estudio farmacognóstico y fotoquímico de *Corynaea crassa* Hook. f. (Huanarpo Macho). [Tesis de pregrado para optar el título de químico farmacéutico]. Guayaquil. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas, 2018. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/reduj/36782/1/BCIEQ-T-0350%20Pita%20Ronquillo%20Jes%c3%bas%20Alberto.pdf>
39. López Puerta Francis Marcial, León-Manco Roberto Antonio, Beltrán-Silva Jorge Arturo. Estudio in vitro comparativo del diagnóstico radiológico de lesiones de caries dental proximal utilizando las técnicas convencional y digital directa. *Rev. Estomatol. Herediana* [Internet]. 2016, 26(2): 63-69. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1019-43552016000200002&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552016000200002&lng=es). <http://dx.doi.org/10.20453/reh.v26i2.2867>.
40. Calderón K, Cristóbal E. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 [Tesis de pregrado para optar el título de Químico Farmacéutico] Lima. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2019. Disponible en: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5111/TESIS\\_\\_C\\_ALDER%c3%93N%20C%c3%93NDOR%20-%20CRIST%c3%93BAL%20REYNA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5111/TESIS__C_ALDER%c3%93N%20C%c3%93NDOR%20-%20CRIST%c3%93BAL%20REYNA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
41. Coronel J, Grandez E. Efecto antibacteriano in-vitro de los extractos hidroalcohólicos de *Allium sativum* "Ajo" y *Ocimum basilicum* "Albahaca" sobre *Staphylococcus aureus*. [Tesis de pregrado para optar el título de Químico Farmacéutico] Huancayo. Universidad Roosevelt. 2021. Disponible en: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/445/Tesis%20Grandez-Coronel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**ANEXOS**



## Anexo3: CERTIFICADO DE ANALISIS AYRU

### INFORME DE ANÁLISIS AYRU N° 101-2022

Emitido en Huaraz, el 21 de febrero del 2022

<b>Orden de Trabajo</b>	: 085-2022
<b>Número de servicio</b>	: 105-2022-AYRU
<b>Nombre del Solicitante</b>	: Bach. Rosmery Yoselly Huamani Neyra Bach. Stephany Ventura Oncevay
<b>Dirección</b>	: Tarapoto – San Martín
<b>Servicio solicitado</b>	: Evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. (cacao) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> (Incluye elaboración del extracto hidroalcohólico)
<b>Producto a evaluar</b>	: Hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. (cacao)
<b>Cantidad de muestra</b>	: 1 kilogramo de hojas en polvo
<b>Identificación</b>	: -----
<b>Presentación</b>	: Bolsa de polietileno
<b>Lugar y fecha de recepción</b>	: Laboratorio de Análisis, 04 de febrero de 2022
<b>Características de entrega</b>	: Muestra proporcionada por el solicitante en bolsa de polietileno
<b>Condiciones de recepción</b>	: En aparente buen estado a temperatura ambiente
<b>Muestra de dirimencia</b>	: No proporcionada por el solicitante
<b>Fecha de inicio de ensayo</b>	: 04 de febrero de 2022
<b>Fecha de término de ensayo</b>	: 19 de febrero de 2022

#### ENSAYOS

DETERMINACIONES	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO	RESULTADOS *
Evaluación de la actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10%	Resistente
	25%	Resistente
	50%	Sensibilidad Intermedia
	75%	Sensibilidad Intermedia

\*El control utilizado es Ciprofloxacino (5 µg)

El disco presenta 6 mm de diámetro, por lo cual las lecturas de los halos consideran el diámetro del disco

  
**Mg. MIGUEL ANGEL INOCENTE CAMONES**  
Magister en Productos Naturales y Biotecnología  
Químico Farmacéutico

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) del lote ensayado(s) y no se puede extrapolar los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote del producto evaluado que no haya sido analizada. **Página 1 de 5**

**PROHIBIDA LA MODIFICACIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME**

Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru SAC. Jr. Rafael Del Castillo S/N, Huaraz, Ancash. E-mail: [laboratorio@ayru.com](mailto:laboratorio@ayru.com)

**RESULTADOS DETALLADOS**
**I. RESULTADOS DE LA MEDIDAS DE HALOS DE INHIBICIÓN**

PLACA PETRI	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
	A	B	C	D	E	F
1	6	10.26	12.37	18.52	24.32	32.81
2	6	10.27	12.32	18.64	24.38	32.65
3	6	10.39	12.48	18.47	24.49	32.77
4	6	10.34	12.49	18.42	24.56	32.92
5	6	10.21	12.36	18.63	24.34	32.64
6	6	10.29	12.45	18.71	24.29	32.87
<b>PROMEDIO</b>	<b>6.00</b>	<b>10.29</b>	<b>12.41</b>	<b>18.57</b>	<b>24.40</b>	<b>32.78</b>
<b>DS</b>	<b>0.00</b>	<b>0.06</b>	<b>0.07</b>	<b>0.11</b>	<b>0.11</b>	<b>0.11</b>

**Leyenda:** A = Control Etanol 70%; B = Extracto 10%; C = Extracto 25%; D = Extracto 50%; E = Extracto 75%; F = Control Ciprofloxacino 5 µg

**II. RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN RESPECTO AL CIPROFLOXACINO**

PLACA PETRI	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN RESPECTO AL CIPROFLOXACINO					
	A	B	C	D	E	F
1	0	15.89	23.76	46.70	68.33	100
2	0	16.02	23.71	47.43	68.97	100
3	0	16.40	24.21	46.58	69.07	100
4	0	16.12	24.11	46.14	68.95	100
5	0	15.80	23.87	47.41	68.84	100
6	0	15.97	24.00	47.30	68.07	100
<b>PROMEDIO</b>	<b>0.00</b>	<b>16.03</b>	<b>23.94</b>	<b>46.93</b>	<b>68.70</b>	<b>100.00</b>
<b>DS</b>	<b>0.00</b>	<b>0.21</b>	<b>0.20</b>	<b>0.53</b>	<b>0.41</b>	<b>0.00</b>

**Leyenda:** A = Control Etanol 70%; B = Extracto 10%; C = Extracto 25%; D = Extracto 50%; E = Extracto 75%; F = Control Ciprofloxacino 5 µg



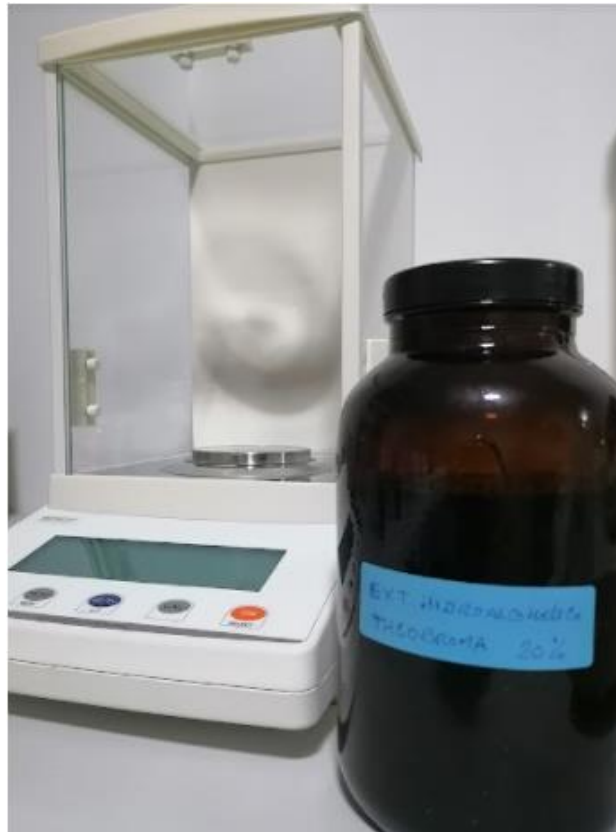
**Mg. MIGUEL ANGEL INOCENTE CAMONES**  
 Magister en Productos Naturales y Biotecnología  
 Químico Farmacéutico

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) del lote ensayado(s) y no se puede extrapolar los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote del producto evaluado que no haya sido analizada. **Página 4 de 4**

**PROHIBIDA LA MODIFICACIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME**

Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru SAC. Jr. Rafael Del Castillo S/N, Huaraz, Ancash. E-mail: [laboratorio@ayru.com](mailto:laboratorio@ayru.com)

#### Anexo4: extracto hidroalcohólico



#### Anexo5: Preparación del Agar



## Anexo6: Análisis microbiológico



## ANEXO N7. MATRIZ DE CONSISTENCIA

### EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Theobroma cacao* L. (cacao) SOBRE *Staphylococcus aureus*

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVOS GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACION DE VARIABLES			METODOLOGÍA
			V1.	DIMENSION	INDICADORES	
¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L sobre <i>Staphylococcus aureus</i> .	El extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Theobroma cacao</i> L tiene efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i> .	El extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Theobroma cacao</i> L	Fitoquímica	Tamizaje Fitoquímico	<p><b>Tipo:</b> Transversal</p> <p><b>Nivel:</b> cuantitativo</p> <p><b>Diseño:</b> experimental</p> <p><b>Población:</b> Especie vegetal <i>Theobroma cacao</i> L.(cacao) perteneciente al departamento Tarapoto -San Martin.</p> <p><b>Muestra:</b> 3 kg de hojas de <i>Theobroma cacao</i> L.(cacao)</p> <p><b>Descripción de los procesos experimentales:</b></p> <p><b>Recolecta:</b> Se lavó las hojas Seleccionadas con agua destilada luego se puso en papel kraf para ser secadas en la estufa a 40C° durante 48 horas para ser molidas a mano.</p> <p><b>Obtención del extracto hidroalcohólico:</b> El tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L.(cacao).</p> <p><b>Ensayo microbiológico</b></p> <p>Se preparo el inculo se tomó con el asa esterilizada de siembra las cepas y se introdujo en el caldo nutritivo y</p>
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	V2.	DIMENSION	INDICADORES	
<p>1. ¿Qué metabolitos secundarios tiene el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. responsables del efecto antibacteriano?</p> <p>2. ¿Cuál será la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. que posee efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>3. ¿Cuál será el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. comparado con ciprofloxacino</p>	<p>1. Identificar los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. (cacao) mediante tamizaje fitoquímico.</p> <p>2. Hallar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L. (cacao) que posee efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>3. Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de</p>	<p>1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L tiene metabolitos secundarios.</p> <p>2. Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L, que posee efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Theobroma cacao</i> L tiene efecto antibacteriano en comparación con ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	Efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	Microbiológica	Medición del diámetro de inhibición	

<p>sobre <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>las hojas Theobroma cacao L frente a ciprofloxacino.</p>					<p>se comparó la turbidez con la escala de Mac Farland <b>Sembrado:</b> Con un hisopo estéril introdujo en el inoculo presionando las paredes internas del tubo luego se realizó el sembrado de Olga Muller Hilton en forma estriada <b>Método de difusión de discos:</b> Es empleado para determinar la sensibilidad de los antibacterianos</p>
--	---	--	--	--	--	--