



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

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
HOJAS DE *PEPEROMIA GALIOIDES KUNTH* (CONGONA) EN *SALMONELLA*
ENTÉRICA SEROTIPO *TYPHIMURIUM* ATCC 14028”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORES

BACH. GERARDO MANUEL PÉREZ CABRERA
BACH. LEONÍDES MARTÍN HINOSTROZA SILVA

ASESOR

MG. JORGE ANTONIO CHÁVEZ PÉREZ

LIMA – PERÚ
2019

Dedicatoria

A Dios, quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desfallecer. A mis padres, por el apoyo incondicional y sus consejos para hacer de mí una mejor persona. Gracias a todos ellos por sus palabras y confianza, por su amor y brindarme el tiempo necesario para realizarme profesionalmente.

Agradecimiento

A Dios principalmente, por ser quien en toda nuestra vida nos encomendamos para no desfallecer en todas las acciones que realizamos. A nuestra Universidad y la Facultad de ciencia Farmacéuticas y Bioquímica, por ser la que formó en nuestras vidas una persona de valores de conocimientos científicos y de solidaridad hacia los demás.

Resumen

El siguiente trabajo de investigación tiene como finalidad evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) en *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028. El tipo de trabajo fue aplicada, experimental, correlacional, prospectivo y transversal, se desarrolló el siguiente trabajo experimental en laboratorios de la facultad de Ciencias de la Salud de la carrera de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Interamericana para el desarrollo. Nuestra muestra vegetal fue adquirida del Centro poblado de Chinchipe (Áncash). Se preparó el extracto etanólico con la finalidad de realizar los siguientes análisis: Marcha fitoquímica, prueba de solubilidad, citotoxicidad en las semillas de lechuga y evaluación de actividad antibacteriana, para lo cual se empleó el método Kirby-Bauer; donde fueron dividida en 8 grupos de 5 placas cada uno, los grupos fueron 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8. Se administró a los grupos 2, 3, 4, 5, 6 y 7 extracto etanólico de congona al 100%, 75%, 50%, 25%, 10% y 5% respectivamente para comparar con un control positivo en el que se usó Ciprofloxacino 200mg/100ml. Se concluye este trabajo de investigación demostrando el extracto de *Peperomia galioides kunth* (congona) presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Salmonella Entérica* serotipo *Typhimurium* ATCC 14028.

PALABRAS CLAVE: *Peperomia galioides kunth* (congona), actividad antibacteriana, evaluación citotóxica, extracto etanólico.

Abstract

The following research work aims to evaluate the in vitro antibacterial activity of the ethanolic extract of the leaves of *Peperomia galioides kunth* (congona) in enteric serotype of *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. The type of work was applied, experimental, correlational, prospective and transversal, the following experimental work was carried out in laboratories of the Faculty of Health Sciences of the Pharmacy and Biochemistry career of the Inter-American University for Development. Our plant sample was acquired from the populated center of Chinchipe (Áncash). The ethanolic extract was prepared in order to perform the following analyzes: Phytochemical march, solubility test, cytotoxicity in lettuce seeds and evaluation of antibacterial activity, for which the Kirby-Bauer method was used; where they were divided into 8 groups of 5 plates each, the groups were 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8. Groups 2, 3, 4, 5, 6 and 7 were administered 100%, 75%, 50%, 25%, 10% and 5% congona ethanolic extract respectively to compare with a positive control in which it was used Ciprofloxacin 200mg / 100ml. This research work is concluded demonstrating the extract of *Peperomia galioides kunth* (congona) presents antibacterial activity in vitro against strains of Enteric *Salmonella* Serotype Typhimurium ATCC 14028.

KEY WORDS: *Peperomia galioides kunth* (congona), antibacterial activity, cytotoxic evaluation, ethanolic extract.

Índice general

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Resumen	
Abstract	
Índice general	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Introducción	1
Capítulo I: Planteamiento del problema	2
1.1 Descripción de la realidad problemática	2
1.2 Formulación del problema	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problemas específicos.	3
1.3 Objetivos	3
1.3.1 Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos.	3
1.4 Justificación	4
Capítulo II: Fundamentos teóricos	5
2.1 Antecedentes	5
2.1.1. Nacionales	5
2.1.2 Internacionales	7
2.2 Bases teóricas	9
2.3 Marco conceptual	16
2.4 Hipótesis.	17
2.4.1 Hipótesis general	17
2.4.2 Hipótesis específicas	17

	7
2.5 Operacionalización de variables e indicadores	18
Capítulo III: Metodología	19
3.1. Tipo y diseño de investigación	19
3.2 Descripción del método y diseño	19
3.3. Población y muestra	25
3.4. Técnicas e instrumentos de Recolección de datos	25
3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.	25
Capitulo IV: Presentacion y analisis de resultados	26
4.1 Presentación de resultados.	26
4.2 Prueba de hipótesis	29
4.2.1 Hipótesis general	29
2.4.2 Hipótesis específicas	31
4.3 Discusión de resultados	35
Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones	37
5.1 Conclusiones	37
5.2 Recomendaciones	38
Referencias bibliográficas	39
Anexo A. Matriz de consistencia.	¡Error! Marcador no definido.
Anexo B. Instrumentos.	47
Anexo C. Data consolidado de resultados.	48
Anexo D. Cronograma de actividad experimental.	51
Anexo E. Testimonios fotográficos.	52
Anexo F. Juicio de expertos.	56
Anexo G. Certificado de la muestra biológica (Bacteria).	59
Anexo H. Constancia de Clasificación Taxonómica de la muestra vegetal.	60

Índice de tablas

Tabla 1 Operalización de variables	18
Tabla 2 Marcha fitoquímica	26
Tabla 3 Prueba de solubilidad	27
Tabla 4 Prueba de citotoxicidad	27
Tabla 5 Prueba de normalidad por el test de Shapiro-Wilk a los resultados del ensayo de citotoxicidad	28
Tabla 6 Resultados del ensayo microbiológico	28
Tabla 7 Prueba de normalidad por el test de Shapiro-Wilk de los resultados del ensayo microbiológico	29
Tabla 8 Análisis e varianzas de los resultados del ensayo microbiológico	31
Tabla 9 Comparaciones múltiples de los grupos experimentales frente al control positivo, por el test de Dunnet del ensayo microbiológico	32
Tabla 10 Comparaciones múltiples por el test de Dunnet (>control	33
Tabla 11 T de Student para muestras independientes del ensayo de citotoxicidad	34

Índice de figuras

Figura 1 Centro Poblado de Chinchipe-Ancash.	10
Figura 2 Mapa de Centro Poblado de Chinchipe.	11
Figura 3 Mapa General de Centro Poblado de Chinchipe..	11
Figura 4 Compuestos químicos de la congona..	12
Figura 5 Diagrama de flujo para marcha fitoquímica..	21
Figura 6 Diagrama de barras del resultado del ensayo microbiológico.	30
Figura 7 Preparación del extracto etanólico..	52
Figura 8 Marcha fitoquímica	53
Figura 9 Prueba de solubilidad..	54
Figura 10 Prueba de citotoxicidad..	54
Figura 11 Prueba antibacteriana..	55

Introducción

Las plantas naturales han sido una fuente muy importante desde la antigüedad que nos ha proveído muchas sustancias fitoquímicas con múltiples propiedades terapéuticas para prevenir y/o tratar muchas enfermedades y han sido muy bien aprovechados por los seres humanos de generación en generación y a lo largo de la historia han venido perdiendo su uso, se podría decir por falta de información o por poca aportación de la comunidad científica relacionado a la investigación de la terapia fitoquímica. Tratar o aliviar las enfermedades utilizando productos naturales es una labor de toda la comunidad investigadora, para lo cual se buscan, en la vasta de las regiones de nuestro país, aquellas plantas medicinales que los pueblos tradicionales han venido empleando como terapia alternativa en múltiples patologías que los aquejan. La congona es una planta que crece en partes altas de la sierra andina, especialmente en zonas húmedas, bosques y sobre todo en tierras fértiles, esta planta químicamente está constituida por hidrocarburos monoterpénicos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos oxigenados y sesquiterpenos; muchas propiedades terapéuticas se le atribuye posiblemente gracias a estos componentes químicos, por ello son empleadas para tratar como estimulante cardíaco, alivio de jaquecas, de males del tórax, cólicos menstruales, calmante de dolores óticos, para la gingivitis o estomatitis, cicatrizante de heridas, tratar algunas infecciones en la piel, combate a la esterilidad, afecciones del post parto, de los riñones y del hígado, por ello en la medicina ancestral son usadas en diversas preparaciones como infusiones, chichas y zumos. Los habitantes del Perú generalmente en zonas rurales realizan múltiples actividades donde se exponen a numerosas lesiones y por falta de tratamiento con fármacos antibacterianos se puede complicar con microorganismos altamente patógenos sino es tratado en el momento oportuno, sí el individuo es inmunocomprometido puede complicarse, desencadenando una emergencia médica por lo cual es necesario administrar productos con propiedades antibacterianas.

En el siguiente trabajo de investigación se demuestra la actividad antibacteriana del extracto de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) *in vitro* frente a cepas de *Salmonella Entérica* serotipo *Typhimurium* ATCC 14028, para lo cual se realizó los siguientes análisis como marcha fitoquímica, prueba de solubilidad, citotoxicidad en semillas de lechuga.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

En la actualidad una de las principales preocupaciones para la OMS y OPS está relacionada a las enfermedades ocasionadas por los microorganismos patógenos, dentro de los cuales las bacterias representan hasta un 95% de agentes responsables de generar un aumento en la morbilidad y mortalidad de las poblaciones. Romero (2019); Donatien (2018).

Frente a este problema y ante la cada vez menor disponibilidad y efectividad de terapéutica farmacéutica, Casadevall (2017). La terapia natural en base a plantas, surge como una alternativa efectiva tanto en la prevención y tratamiento de las enfermedades como en la mejora de la calidad de vida de los afectados en su salud. Oliveira (2005). En algunos casos pueden ser suficientes para curar una afección y en otros serán el coadyuvante de otras intervenciones terapéuticas, o en su defecto ayudarán a mejorar la sintomatología asociada. Gallegos (2017).

Entre estas plantas, *Peperomia galioides kunth* es una a la cual se le atribuyen propiedades medicinales como estimulante cardíaco, alivio de jaquecas, de males del tórax, cólicos menstruales, calmante de dolores óticos, para la gingivitis o estomatitis, cicatrizante de heridas, combate a la esterilidad, afecciones del post parto, de los riñones y del hígado. Akinnibosun (2008); De Feo (2008); Cerón (2006).

Las hojas y los tallos son ricos en alcaloides, taninos, resinas, miristicina y bisabolol, por ello en la medicina ancestral son usadas en diversas preparaciones como infusiones, zumos, chichas, etc. Carvajal(2012); Noriega (2015).

Salmonella entérica es uno de los principales patógenos transmitidos por los alimentos en el mundo, siendo una de las principales causas de brotes de intoxicación alimentaria. Conocer su susceptibilidad frente a *Peperomia gaiolides* podría facilitar la implementación de estrategias de bioseguridad y vigilancia para la prevención de sus efectos patogénicos tanto en las personas como en los animales. Barreto (2016); Quesada (2016).

Investigar los componentes químicos de las plantas, así como sus propiedades antibacterianas es importante para el posible manejo y tratamiento de las afecciones ocasionadas por microorganismos, especialmente contra *Salmonella entérica typhimurium*.

1.2 Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Presentará actividad antibacteriana *In Vitro* el extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) frente a *Salmonella entérica* serotipo *Typhimurium* ATCC 14028?

1.2.2. Problemas específicos.

1. ¿El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) será mayor a ciprofloxacino frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028?
2. ¿Qué concentración del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) poseerá mayor actividad antibacteriana *in Vitro* ante *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028?
3. ¿Cuál será la actividad citotóxica del extracto etanólico de *Peperomia galioides kunth* (congona) frente a semillas de lechuga?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antibacteriana *In Vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

1.3.2. Objetivos específicos.

1. Demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) que será mayor a ciprofloxacino frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.
2. Evaluar la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) que poseerá mayor actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ACTT 14028.

3. Demostrar la actividad citotóxica del extracto etanólico de *Peperomia galioides kunth* (congona) frente a semillas de lechuga.

1.4 Justificación

Actualmente el estudio de las plantas y sus actividades medicinales es un área de relevancia, tanto a nivel local como regional, los escasos efectos adversos, así como la baja toxicidad que estas presentan las ponen como una excelente alternativa a la medicación farmacéutica tradicional.

Las diversas investigaciones que se realizan para determinar las propiedades que tradicionalmente estas presentan, basadas principalmente por medio oral de generación a generación, contribuyen a generar un registro científico de sus propiedades curativas, de esta manera afirmando la importancia de su estudio, ya que estas investigaciones pasaran a ser evidencia de dichas propiedades.

Peperomia galioides es tradicional del Perú, endémica, perteneciente a la familia piperaceae. Tradicionalmente utilizada en medicina herbaria. Se le atribuyen propiedades carminativas, analgésicas, hepáticas, entre otras. Químicamente constituida por hidrocarburos monoterpénicos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos oxigenados y sesquiterpenos.

Los beneficios de investigar a las plantas (*Peperomia galioides kunth*) con propiedades terapéuticas se revertirán en nuevos servicios de salud para las diversas dolencias que aquejan a la población de las zonas rurales, abaratando los costos y la accesibilidad a una terapia alternativa en relación a la alta demanda de fármacos tradicionales y la escasa disponibilidad de los mismos, así como, de su cada vez más elevado costo en perjuicio de la población de menos recursos.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 Antecedentes

2.1.1. Nacionales

Alfaro (2018). El siguiente trabajo investigación tuvo como objetivo fundamental determinar el efecto analgésico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Peperomia dolabriformis kunth* (congona de zorro), para ello la muestra vegetal fue recolectada de las lomas del cerro Campana de distrito de Huanchaco provincia de Trujillo-Perú, su elaboración del extracto fue realizado por maceración, en la marcha fitoquímica determinaron los siguientes metabolitos secundarios: catequinas, lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides, antocianidinas y azúcares reductores. El extracto hidroalcohólico a la dosis de 10mg/kg, 20mg/kg y 30mg/kg, se evidenció que hay efecto analgésico con porcentaje de inhibición del número de contorsiones abdominales de 35%, 66.08% y 88.11%, presentado el de 30mg/kg la mejor actividad analgésica con respecto a la comparación con Indometacina 10mg/kg.

García (2018). Realizaron un estudio titulado “Actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Peperomia dolabriformis kunth* frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*”. Donde evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Peperomia dolabriformis kunth* frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*, para el siguiente estudio la muestra vegetal fue recolectado de las lomas costeras del cerro Campana del distrito de Huanchaco provincia de Trujillo-Perú, obtuvieron el aceite esencial utilizaron el método hidrodestilación. En cuanto a evaluación de la actividad antimicrobiana emplearon el método de difusión en pozos de agar kirby-Bauer modificado, con los resultados demostraron que los aceites esenciales de las hojas de congona presentan efecto antimicrobiano frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*.

Sáenz. (2018). Investigó *Peperomia congona sodiro* conocida como congona procedente de Ancash-Perú la cual posee propiedades medicinales. El método que empleó fue destilación por arrastre de vapor para obtención del aceite esencial y disco difusión para la actividad antibacteriana, donde empleó concentraciones a 100%, 50%, 25% y 12,5%. En esta investigación demostraron que el aceite esencial de las hojas de *Peperomia congona sodiro* a diferentes concentraciones presenta actividad antimicrobiana frente a *Salmonella aureus*

ATCC 25923 y *Salmonella entérica* sv enteritidis ATCC 13076, atribuyéndose dicha actividad gracias a sus metabolitos activos como safrol y bisabolol.

Tarazona (2018). Evaluaron actividad cicatrizante de la crema elaborada del extracto etanólico de las hojas y tallos de *Peperomia galioides kunth* (congona) en heridas inducidas a las ratas albinas, realizando una comparación con la crema Multimycin, para ello la muestra vegetal fue obtenida de la localidad de Asunción del departamento Ancash-Perú. En esta investigación emplearon el método de Nayak y col, dividieron en cinco grupos a las ratas albinas cada grupo estuvo formado por cinco animales experimentales y le aplicaron cremas elaboradas a base de extracto etanólico de las hojas y tallos de congona en las siguientes concentraciones 10%, 25%, 50% respectivamente, como control positivo emplearon la crema Multimycin; llegaron a una conclusión que la crema preparada del extracto etanólico de las hojas y tallos de congona presenta actividad cicatrizante frente a ratas albinas.

Huansha (2018). Realizaron un estudio con finalidad de evaluar la actividad cicatrizante a base de extracto hidroalcohólico de hojas de *Peperomia congona sodiro* (congona), en ratas albinas. En este trabajo de investigación emplearon una metodología de tipo experimental, la muestra vegetal fue recolectada de la provincia de Yungay departamento de Ancash-Perú, elaboraron el extracto hidroalcohólico para realizar la prueba de solubilidad y la marcha fitoquímica donde hallaron cumarinas, alcaloides y flavonoides, en la prueba farmacológica fue realizada con el método de incisión donde emplearon tres concentraciones al 25%,50% y 100%, demostrando mayor efectividad con actividad cicatrizante la concentración al 100%, evidenciando con un cierre de 84% de la herida inducida a los animales de experimentación en comparación con la crema control de Sulfacrem. Llegaron a una conclusión que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Peperomia congona sodiro* (congona), presenta alta actividad cicatrizante en ratas albinas.

2.1.2 Internacionales

Idris (2016). Investigaron en Nigeria la actividad antimicrobiana y fitoquímica de *Peperomia pellucida* para ello realizaron un cribado preliminar en la muestra en polvo para detectar la presencia de metabolitos secundarios. Los filtrados concentrados en baño de agua (40°C) fueron probados contra cepas de algunos aislamientos de bacterias, como *Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella Pneumoniae* ATCC 34089, *Salmonella typhi* ATCC 22648, *Salmonella aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa*, utilizando el método de difusión de pozos de agar. El cribado fitoquímico de esta planta mostró la presencia de antraquinona, taninos, flavonoides, alcaloides y glucósidos. Todos los extractos exhibieron actividades antimicrobianas con el metanol, aunque con menos potencia, mientras que el extracto de N-hexano exhibió la mayor potencia. La MIC (200 mg/ml) de los extractos de plantas determinó que es efectivo contra las cepas de microorganismos. Concluyeron que las propiedades antimicrobianas contra las cepas analizadas indicaron la potencial utilidad de *Peperomia pellucida* en el tratamiento de diversas enfermedades patógenas que en el futuro pueden ser desarrollado como un posible agente antimicrobiano.

Noriega (2015). Evaluaron la composición química y las actividades biológicas *In Vitro* de *Peperomia inaequalifolia* la cual es una planta aromática medicinal de Ecuador, conocida comúnmente como “Congona”, muy apreciada por sus atributos farmacológicos. El estudio químico reveló la presencia de 17 componentes, 14 de los cuales fueron identificados, tales como safrol (32,10%), 11- α H-himachal-4-en-1- β -ol (25,29%), miristicina (13,29%), elemicina (10,07%) y viridiflorol (5,24%). Los estudios de actividad antirradical (prueba DPPH) y antioxidante (PCL) demostraron que el aceite posee una actividad interesante, ligeramente inferior a la referencia natural, el aceite esencial de *Thymus vulgaris*. Los resultados de la CMI mostraron que el aceite tiene propiedades antimicrobianas y antifúngicas considerables, particularmente contra las bacterias Gram+ (*Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus* ATCC 6538 y *Streptococcus mutans* ATCC 25175) y dos levaduras (*Candida tropicalis* ATCC 13803 y *Candida albicans* ATCC 10231).

Ogunmoye (2018). Realizaron estudios en Nigeria donde Extrajeron el aceite esencial de las hojas secadas al aire de *Peperomia pellucida* por el método de hidrodestilación, se identificaron un total de treinta componentes y los componentes principales son Elemol

(9,32%), Neointermedeol (8,35%), 1H-3a, 7-Metanoazuleno- (5,60%) y Bicielo [2.2.1] heptanos, 2,2, 3-trimetilo (5,08%). Los sesquiterpenos y los sesquiterpenos oxigenados (52,71%) constituyeron una porción significativa del aceite de la hoja. Los efectos antimicrobianos mostraron que tiene una concentración mínima de inhibición (MIC) en *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis* a una concentración de aceite al 0,01%; pero se obtuvo MIC contra *Boletus aereus* a una concentración del 0,1% del aceite. El resultado de los antimicóticos en *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus tamari* a diferentes concentraciones de 1.0, 0.1, 0.01, 0.001 y 0.0001% mostró que los aceites esenciales de la planta tienen potentes efectos antifúngicos en las tres especies de hongos.

Mora (2016). Describieron la composición química y la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Peperomia acuminata*, proveniente de del estado de Mérida Venezuela. Se extrajo el aceite mediante la hidrodestilación de las hojas y dispersión de compuestos a través de la cromatografía de gases lo que logró la especificación de compuestos, siendo el más importante el 2E-dodecenal ya que se encuentra en un (65%), esta investigación demuestra la gran efectividad de amplio espectro que tiene el aceite esencial de *Peperomia acuminata* frente a las bacterias Gram positivas como lo son (*Enterococcus faecalis* 29212 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), con la concentración mínima inhibitoria de 1ul/ml.

Ramos (2017). Estudios realizados en Colombia, Determinaron la caracterización del aceite esencial de la especie *Peperomia subspathulata* (Piperaceae) y evaluación de su capacidad como agente antimicrobiano. La cual su objetivo fue obtener el aceite esencial por medio de arrastre con vapor y se le caracterizó por medio de (CG-MS) su actividad antimicrobiana se determinó frente a *Escherichia coli* por medio de la técnica de Kirby Bauer y dilución de caldo con la finalidad de determinar su potencial como agente antimicrobiano. En la extracción del aceite esencial los compuestos con mayor presencia fue el safrol (69,48%) y otros compuestos como α -bisabolol (16,13%), xantoxilina (1,01%) y miristicina (3,65%). el aceite esencial demostró que no posee efecto inhibitorio ante *Escherichia coli*.

2.2 Bases teóricas

Familia piperácea

Las familias de las piperáceas su crecimiento y desarrollo de esta familia son muy favorable en territorios cálidos, presenta un gran número de variedades de consistencia fibrosa, son arbustos o hierbas suculentas, presentan ramificaciones, pueden ser epifitos o terrestres, aromáticos, glabros o pubescentes, muy aromáticos con hojas simples pueden ser verticiladas u opuestas, las flores son hermafroditas y no presentan tricomas y se encuentran en el borde de las axilas a nivel de las brácteas. El androceo presenta dos estambres muy cortos y con respecto al gineceo tiene tres carpelos que van unidos a un solo carpelo. Ayala (2003).

Taxonomía *Peperomia galioides kunth* (Congona).

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Magnollidae

Orden: Piperales

Familia: Piperácea

Género: *Peperomia*

Especie: *Peperomia galioides kunth*

Nombre vulgar: Congona.

A nivel mundial el género Piper (Piperácea), comprende un aproximado de 500 especies y que la mayoría de ellas han sido identificadas, siendo biológicamente activos es por ello que el estudio de esta familia es de gran interés para demostrar sus múltiples actividades. Fito terapéuticos como uno de los afectos que se le atribuye es el antibacteriano. Tebbs (1993).

En particular, Ecuador es el país donde presenta cuatro variedades de este género y 400 subespecies que se han podido aclimatar con mucha facilidad a tierras meridanas y en tierras andinas donde hay presencia de muchos bosques también encontramos esta especie porque la humedad los facilita para su crecimiento y desarrollo. Las múltiples variedades que existen de esta planta han sido demostradas una eficiencia en la medicina alternativa, desde que se conoció los principales metabolitos activos como son: Amidas, piperidinicas, pirrolidinicas, e isobutilicas, aceites esenciales, piperonas, lignanos, neolignanas, por ello

hace su uso que sea de mucha demanda, pero no es muy difundido por el poco aporte de investigación científica sobre esta planta. Tebbs (1993).

Descripción de *Peperomia galioides kunth*.

Es una planta rastrera, nativa de zonas andinas su denominación vulgar es congona, podemos encontrar en las provincias de Huaraz, Carhuaz, Recuay, Pallasca, la altitud favorece su desarrollo. Podemos ubicarlo desde mil quinientos hasta tres mil doscientos metros sobre nivel del mar siendo su hábitat favorable en tierras cálidas es por ello que lo podemos encontrar en Chile y Perú. Ayala (2003).

Esta planta puede llegar alcanzar una altura hasta 80 cm con una inflorescencia muy admirable con una forma de láminas, las hojas presentan un ápice muy pronunciado con una base cuneada donde nos permite distinguir con mayor facilidad, el aroma que presenta esta planta es olor muy característico. Ayala (2003).

La especie *Peperomia galioides kunth* (congona) encontramos distribuidos en el centro poblado de Chinchipe, Distrito de Huayllapampa, provincia de Recuay, departamento de Ancash, con una altitud de 3132 msnm. La congona es una planta silvestre oriundo de nuestra sierra peruana, crece entre febrero y abril, el clima debe ser tropical para favorecer su crecimiento, en cuanto a su cultivo la tierra debe ser muy rico y fértil y con un buen drenaje porque sus raíces no son muy tolerantes al exceso de humedad, la temperatura que permite un buen desarrollo debe estar en un rango de 15 a 25 °C. Muños (1996).



Figura 1 Centro Poblado de Chinchipe-Ancash, Lugar de crecimiento de *Peperomia galioides kunth* (congona). Fuente: tomada por los investigadores.



Figura 2 Mapa de Centro Poblado de Chinchipe. Ubicación Geográfica de Centro Poblado de Chinchipe. Fuente: DePerú.com



Figura 3 Mapa General de Centro Poblado de Chinchipe. Mapa general del centro poblado Chinchipe, mostrando distritos anexos. Fuente: DePerú.com.

Aplicaciones Etnofarmacológicas

Desde años muy remotos la planta de congona ha sido utilizada en la medicina con fines terapéuticos, ya que son ricas en taninos, alcaloides, resinas, mirística, flavonoides, antocianidinas gracias a sus principios fitoquímicos nos permite utilizar como cicatrizante, en procesos antiinflamatorios, en las heridas de tejidos blandos como antibacteriano tópico, antiséptico bucal como reemplazo de la pasta dental, también se le atribuye propiedad analgésica moderada, es utilizado también como aliviar jaquecas, dolor menstrual y en algunos casos para aliviar los dolores óticos. Huansha (2018).

Composición Química.

Según los estudios realizados nos demuestran que la parte aérea de la planta de congona presentan compuestos químicos como: flavonoides, antocianidinas, alcaloides, mirística, alfabisabolol y safrol. Los estudios nos demuestran que los aceites esenciales de la congona, cumplen una función primordial como un mecanismo de defensa, también cabe resaltar que tiene una propiedad antibacteriana y antimicótica. También dentro de la composición química podemos encontrar saponinas, terpenos, taninos, polifenoles y amidas que tienen le dan esas propiedades cicatrizantes y calmantes. Jimenes (2013).

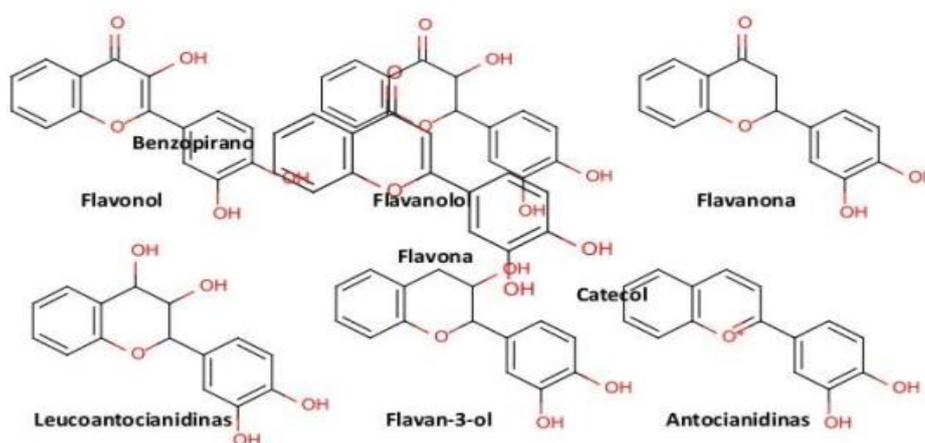


Figura 4 Compuestos químicos de la congona. Principales compuestos químicos de *Peperomia galioides kunth* (congona). Fuente: Khanbabae y Van Ree, (2001).

Enterobacterias

Generalidades

Las enterobacterias son una familia Gran negativas que pertenece a un grupo heterogéneo y que reside en el tubo digestivo del ser humano y de distintas especies de animales. Las enterobacterias son atribuidas a distintas infecciones como: diarreas, infección en el tracto urinario. Las enterobacterias pertenecen a la familia enterobacteriaceae que está conformado por patógenos común como: *Eschericha coli*, *Yersinia pestis*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Salmonella*. Zuleica (2010).

Taxonomía

La Organización mundial de la salud (OMS). Específica y renueva el concepto de esta especie según el cuadro de kauffmann-white. Ana y Jordi (2013).

Reino: bacteria

Filo: proteobacteria

Clase: gammaproteobacteria

Orden: enterobacteriales

Familia: enterobacteriaceae

Género: *Salmonella*

Especie: *Salmonella typhimurium*

Salmonella

La familia Salmonellae conformada por el género *Salmonella* da a conocer alrededor de 2500 serotipos heterogéneos que poseen resistencia a múltiples antibióticos. La *Salmonella* en los humanos es una enfermedad de transmisión alimentaria de gran impacto a nivel mundial. Junod (2013).

La *Salmonella* tiene antígenos somáticos que son lipopolisacáridos y posee antígenos flagelares que son proteínas, la *Salmonella typhimurium* posee un antígeno capsular bioquímicamente suele ser lactosa negativa (-) y sacarosa. Procop (2018).

La infección por *Salmonella* (salmonelosis) es una enfermedad bacteriana común que afecta el tracto intestinal. La bacteria *Salmonella* típicamente vive en el intestino animal y humano y se elimina a través de las heces. Los humanos se infectan con mayor frecuencia a través de agua o alimentos contaminados. Rodríguez, Icochea, y Noé (2006).

El reservorio principal de *Salmonella* retribuye al tubo digestivo de aves, reptiles, mamíferos salvajes y domesticados, estos animales realizan una labor indispensable para la proyección de esta bacteria en el medio ambiente. Junod, Lopez, y Gädicke (2013).

Características morfológicas y bioquímicas.

La familia del género *Salmonella* son Gram negativos, de 0,7-1,5x2,-5µm que por lo general son móviles ya que poseen unos flagelos peritricos. Son catalasa positiva, oxidasa negativa, indol y Voges-Proskauer negativo, rojo de metilo y citrato Simmons Positivo, producen H₂S, lisina, urea negativa, descarboxilasa positiva y ornitina. Morales (2018).

Forman ácido y a partir de glucosa y manosa suelen producir gas, también suele producirse agua y son resistentes al congelamiento en agua por tiempos prolongados, las salmonelas

son resistentes a algunas sustancias químicas que suelen inhibir otras bacterias entéricas. Entre otras características bioquímicas se suele encontrar nitritos a nitratos y no desaminan la fenilalanina. Jawetz, Melnick y Alberberg (2005).

Serotipificación y métodos de determinación de *Salmonella*

Para determinar *Salmonella* Spp. se puede realizar mediante distintos métodos, pero según la gran parte de estudios realizados, el cultivo microbiológico y exámenes bioquímicos que son los métodos más comunes utilizados para aislar la bacteria a partir de tejidos y materia fecal, el método utilizado tiene una alta sensibilidad y especificidad, debe ser simple, económico y rápido. Actualmente ningún método se rige con los criterios establecidos, por lo tanto, se recomienda apoyarse en métodos de diagnóstico innovadores para aislar la *Salmonella*, mediante el uso de exámenes moleculares como Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR) que es capaz de detectar un mínimo número de bacterias (10² a 10⁴ UFC/ml). Nora y Ruiz (2018).

Salmonelosis gastroenteritis

Definición.

La Salmonelosis es la enfermedad más grave que puede afectar al ser humano y a los animales, causando una alta demanda en mortalidad y morbilidad; los principales causantes de esta enfermedad son *Typhimurium* y Enteritidis que son los serovares más frecuentes, estando el primero en hasta un 95% de los casos más frecuentes. Salvatierra y Rimac (2018).

Epidemiología

La infección con *Salmonella* es una de nuestras zoonosis más comunes e importantes (zoonosis, es una enfermedad o infección que puede propagarse entre animales y humanos). La *Salmonella* se puede transmitir tanto de animales a humanos y viceversa. La ruta de infección de los animales a los humanos generalmente es a través de alimentos contaminados. Realpe y Muñoz (2016).

Las enfermedades diarreicas, en países como Venezuela se reportó, en el año 2008 un total de 1.768.509 casos de diarrea, que en un 40% se reportó en menores de 5 años, y la cifra de menores fallecidos en el periodo 2000-2007 fue de 9311, siendo la tercera causa de muerte la bacteria del género *Salmonella* es la más común aislando brotes epidemiológicos. Rodríguez, Arias y Gaiti (2010).

La vía de transmisión de esta bacteria es fecal-oral, por aguas contaminadas no higienizadas, alimentos mal cocinados o manipulados por portadores, la ingesta de animales marinos contaminados o vegetales regados con aguas contaminadas. Jurado, Arenas y Rivero (2010).

Patogenia

Depende de los siguientes factores:

- Inoculo
- Acidez gástrica
- Situación inmunológica del paciente
- Flora saprofita intestinal
- Virulencia del microorganismo
- Peristaltismo

Manifestaciones clínicas

Periodo de incubación: 1–3 días (6 horas a 10 días)

Síntomas de la enfermedad: Dolor abdominal agudo, diarrea, náuseas, fiebre y, a veces, vómitos. A menudo se observan síntomas leves y la infección también puede pasar sin síntomas. Las muertes son raras. A veces, como complicación secundaria a la infección, puede producirse una artritis reactiva, una reacción inmunológica que produce dolor en las articulaciones y fiebre. Jurado, Arenas y Rivero (2010).

Tratamiento

No existe tratamiento con antibióticos adecuados para un caso de gastroenteritis aguda, para este solo existen medidas de soporte de restauración con líquidos y electrolitos. No se recomienda el uso de inhibidores de motilidad intestinal, ya que es un factor para la aparición bacteriana. Jurado, Arenas y Rivero (2010).

Prevención y control

Las enfermedades causadas por consumo de carne contaminada han aumentado en los últimos años debido a los cambios alimenticios de las personas. García, Carreño y Alcayaga (2012).

Para que exista un control de brote de salmonelosis necesario que todos los establecimientos agropecuarios, manipuladores de alimentos y plantas procesadoras establezcan una coordinación para la eliminación de las mismas; se recomienda evitar el consumo de carnes mal cocidas, guardar adecuadamente los alimentos en estado de refrigeración y sobre todo promover el lavado de manos. Jurado, Arenas y Rivero (2010).

2.3 Marco conceptual

Epifito: Que vive sobre otra planta, sin alimentarse a expensas de esta.

Glabro: calvo o lampiño, cuando se trata de una planta son los que no presentan pelos o tricomas.

Hermafrodita: Planta que presenta órganos sexuales femeninos y masculinos a la vez.

Brácteas: Hoja que nace del pedúnculo de las flores de ciertas flores, y suele diferir de la hoja verdadera por la forma, la consistencia y el color.

Androceo: Verticilo floral masculino de las plantas fanerógamas, constituido por uno más estambres.

Gineceo: comúnmente también denominado como pistilo que corresponden a hojas modificadas de los órganos femeninos de la flor.

Metabolito: Producto del metabolismo.

Silvestre: Criada naturalmente y sin cultivo.

Oriundo: Que trae su origen de algún lugar.

Jaqueca: Dolor de cabeza recurrente e intenso, localizado en un lado de la cabeza y relacionado con alteraciones vasculares del cerebro.

Patógenos- Que origina o desarrolla una enfermedad.

Heterogéneo- Compuesto de partes de diversas naturalezas.

Serotipos- Variedad de un microorganismo identificada mediante un examen serológico.

Antígeno- Introducida en un organismo animal, da reacciones de defensa, tales como la formación de anticuerpos.

Flagelo- En ciertas células, orgánulo filiforme semejante a un cilio, pero más largo y capaz de diversos movimientos.

Salmonelosis- Infección por bacterias del género *Salmonella*.

Mortalidad- Tasa de muertes producidas en una población durante un tiempo dado, en general o por una causa determinada.

Morbilidad- Proporción de personas que enferman en un sitio y tiempo determinado.

Inoculo- Introducir en un organismo una sustancia que contiene los gérmenes de una enfermedad.

Virulencia- Cualidad de presentar alta capacidad de infectar.

Gastroenteritis- Inflamación simultánea de la membrana mucosa del estómago y de los intestinos.

2.4 Hipótesis.

2.4.1 Hipótesis general

El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) presenta actividad antibacteriana *In Vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

2.4.2 Hipótesis específicas

1. El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) poseerá mayor actividad antibacteriana que el ciprofloxacino frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.
2. La concentración etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) al 100% poseerá mayor actividad antibacteriana *in Vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ACTT 14028.
3. El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) presenta elevada actividad citotóxica frente a semillas de lechuga.

2.5 Operacionalización de variables e indicadores

TABLA 1
Operacionalización de las variables

Variables	Definición Conceptual	Dimensión	Indicadores
Variable Independiente Extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides kunth</i> ("congona").	<i>Peperomia galioides kunth</i> es una hierba epifita con frutos cafés que posee propiedades medicinales.	Extracto de hojas secas molidas de <i>Peperomia galioides kunth</i> ("congona") Marcha fitoquímica Solubilidad Citotoxicidad	g/ml (+) =leve, (++) =moderado, (+++) = abundante o intenso (-) = ausente. (-) Insoluble, (+) Poco soluble, (++) Medianamente soluble. (+++) Totalmente soluble. Medida de la longitud del crecimiento de las radículas e hipocótilos de las semillas de lechuga.
Variable Dependiente Actividad antibacteriana	Referida al proceso de matar o inhibir las bacterias que causan las enfermedades.	Cepa de <i>Salmonella enterica</i> serotipo <i>Typhimurium</i> ATCC 14028.	Presencia de halo de inhibición.

Definición operacional que está constituida por una serie de procedimientos o indicaciones a realizar. Fuente: Elaboración propia de los autores.

CAPÍTULO III METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

Aplicada, Experimental, correlacional, prospectivo y transversal.

Aplicada: porque nos permitirá dar solución a un problema.

Experimental: porque se trabajará en función de lo establecido previamente en un protocolo, con grupos controles y con manipulación de variables.

Correlacional: Porque nos va permitir medir el grado de relación que existe entre dos variables.

Prospectivo: porque será un proceso sistemático que realizará un seguimiento a la probable actividad antibacteriana frente a *Peperomia galioides kunth*.

Transversal: porque se realizará en relación a una medida al final del experimento.

3.2 Descripción del método y diseño

Recolección de la Muestra.

Las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona), se procedió a recolectar en el Centro poblado de Chinchipe, Distrito de Huayllapampa, Provincia de Recuay del Departamento de Ancash, que se encuentra ubicado a 3132 msnm, se envasó en bolsas de papel kraft y se trasladó a la ciudad de Lima, luego se llevó a la Universidad Interamericana para el Desarrollo para su estudio correspondiente. Se recolectaron aproximadamente 6 Kg de la muestra vegetal. Se realizó la limpieza con hipoclorito de sodio al 1%, para desinfectar y eliminar todo rastro de tierra o algún microorganismo que se encuentre presente, en seguida se llevó a la estufa a 40 °C (a esa temperatura se llevó acabo el secado para no alterar sus metabolitos activos presentes en la muestra vegetal), por un periodo de una semana. Una vez obtenida la muestra vegetal seca se trituro con la ayuda de un mortero y pilón hasta obtener una muestra en polvo fino.

Identificación taxonómica.

La identificación taxonómica de *Peperomia galioides kunth* (congona) se realizó en las instalaciones del Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos (UNMSM). Ubicado en Avenida Arenales N° 1256 en el Distrito de Jesús María, Lima-Perú.

□ **Obtención del extracto etanólico.**

En un envase estéril de vidrio ámbar de boca ancha se colocó el material vegetal seco y pulverizado (10g) de *Peperomia galioides kunth*, y se procedió a maceración con 100 mL de etanol 96°, empleando movimientos circulares paulatinamente al envase, priorizando la homogeneidad del macerado, este proceso se realizó por un periodo de una semana, obteniendo el extracto etanólico como producto final y en seguida se filtró para los análisis correspondientes.

□ **Marcha Fitoquímica.**

Para la realización de la marcha fitoquímica, se requirió de cuatro extractos diferentes, a partir de las hojas secas y pulverizadas: el extracto etanólico, el extracto clorofórmico, el extracto insoluble, y el extracto acuoso. El extracto etanólico se obtuvo a partir de la maceración utilizando el solvente etanol al 96%. Tanto el extracto clorofórmico como el insoluble, se elaboraron en proporción 2 a 1, Mediante el empleo de agitación por 15 minutos para cada caso, se obtuvo el producto requerido. Mientras que el acuoso, se logró de la evaporación del etanol del extracto anterior.

Según la metodología descrita por Olga Lock, la marcha fitoquímica se procedió agregando la muestra vegetal a examinar en diferentes tubos de ensayo, posteriormente se añadió los reactivos para la identificación de sus metabolitos correspondiente. Para ello se realizó cinco fraccionamientos (A, B, C, D, E).

Reactivos para la fracción A: (gelatina, tricloruro férrico, ninhidrina, Shinoda) que determinan taninos, aminoácidos y flavonoides.; Para la fracción B: (Lieberman burchard, bortränguer) determinan esteroides y quinolonas; la fracción C: (Kedde, Lieberman burchard, Mayer, Wagner) determinan esteroides y alcaloides; la fracción D: (Shinoda, Rosenheim, kedde, Lieberman burchard) utilizados para determinar alcaloides, esteroides Leucoantocianidinas y flavonoides; y la fracción E: (Mayer, Rosemheim) que determinan leucoantocianidinas y flavonoides. Mediante los reactivos utilizados sabremos si nuestro extracto presenta en su estructura metabolitos secundarios que se reconocerá por el cambio en el viraje en la coloración.

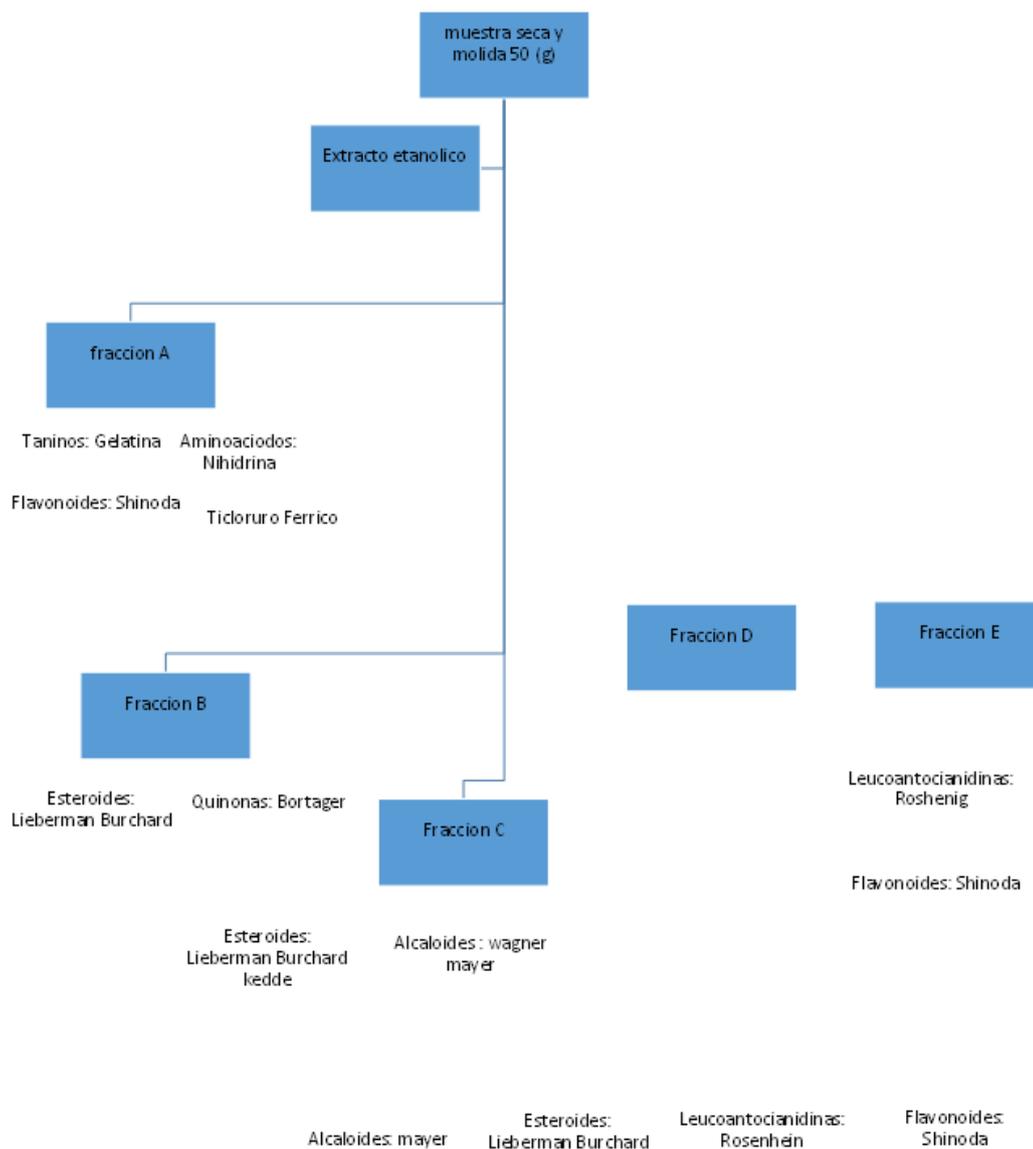


Figura 5 Diagrama de flujo para marcha fitoquímica. En el diagrama de flujo se muestra el proceso según Olga Lock, Fuente: Elaboración propia de los autores.

□ Prueba de solubilidad

Se tomaron 5ml aproximadamente del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) en una placa Petri de esa capacidad, se llevó a la estufa a 50°C hasta observar la evaporación total del solvente.

Se procede al raspado de la muestra seca y se toma una pequeña cantidad de muestra para cada tubo de ensayo y añadir los siguientes solventes: Hexano, cloroformo, diclorometano,

etanol, metanol y agua, utilizando 1 ml del solvente correspondiente a cada tubo de ensayo. Se agita y se observa el grado de dilución.

□ **Citotoxicidad sobre el desarrollo de *Lactuca sativa* (lechuga).**

Proceso de germinación: Se tomó 30 semillas de *Lactuca sativa* (lechuga) para realizar el proceso de pre-germinación, el cual consistió en colocar las semillas en una cámara húmeda (placa Petri acondicionada con papel de filtro Whatman humedecido con agua destilada), la cual fue llevada a la incubadora por 20 horas a una temperatura de 20°C.

Preparación de los controles: Se utilizó 6 placas Petri (2,5cm de diámetro), y en la base de las placas se colocaron papel filtro Whatman y se dividieron en 2 grupos de 3, el grupo 1: control; grupo 2: extracto etanólico de *Peperomia galioides kunth* (congona).

Grupo 1: Se le añadió 100µl de etanol puro (3 repeticiones de 100µl por cada placa Petri) y se dejó secar a temperatura ambiente.

Grupo 2: Se añadió 100µl de extracto etanólico. (3 repeticiones de 100µl por cada placa Petri) y se dejó secar a temperatura ambiente.

Ensayo de citotoxicidad: Trascorridas las 20h del proceso de pre-germinación (30 semillas), son seleccionadas 5 semillas, estas son colocadas por cada una de las placas Petri de forma que ocupen toda la placa y que no tengan contacto entre sí. Seguidamente se adicionó 700µl de agua destilada en cada una de las placas y se procedió a taparlas.

Las placas Petri fueron colocadas dentro de la cámara de humedad; para finalizar el proceso se llevó a incubación por 52 horas a una temperatura de 20°C. Una vez transcurrido el tiempo se evaluó si hubo inhibición total o parcial del crecimiento del tamaño del hipocótilo y radícula de las semillas de lechuga por cada grupo.

Lectura del crecimiento del hipocótilo y radícula: El crecimiento del tamaño se midió con papel milimetrado por cada placa del grupo 1 y grupo 2 de la siguiente manera:

Con la ayuda de una pinza de porcelana se cogió cada semilla y se colocaron en el papel milimetrado, se midió estirando cuidadosamente la radícula y el hipocótilo. Los resultados se expresaron en milímetros. Este proceso se realizó tanto para el grupo 1: control y grupo 2: extracto (muestra).

□ **Evaluación de la actividad antibacteriana**

Según el método Kirby-Bauer (también llamada prueba de difusión de disco).

Prueba De Sensibilidad Antibacteriana

Esterilización de materiales- Los materiales utilizados (pinzas, placa excavada, hisopos, discos de papel filtro), fueron puestos en distintos beakers respectivamente luego recubiertos con papel kraft y sellados a presión con pabilo con la finalidad de crear un ambiente estéril y que no permite la entrada de partículas del ambiente. Una vez teniendo todos los materiales sellados se llevó a la estufa a una temperatura de 180° por 1 hora, ya que con esa temperatura se elimina toda partícula o microorganismo que se encuentre dentro del beaker y se logra el grado de esterilización esperada.

Preparación del medio de cultivo- Se preparó 1.5g de Agar nutritivo en polvo que se vertió en una fiola de 100ml y se le añadió 50 ml de agua destilada para preparar el caldo. Se procedió a agitar de forma continua y circular para que se mezcle y se disuelva de forma homogénea; posteriormente el caldo se llevó al autoclave a 121°C, por 15 minutos.

Preparación del Inóculo - La cepa (*Salmonella entérica Typhimurium* ATCC 14028), se cultivó en el caldo de agar nutritivo a temperatura ambiente (25°C) por 24 horas.

Preparación de concentraciones del extracto etanólico- Para poder evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Peperomia galioides kunth* (congona), se prepararon 7 diferentes concentraciones al (5%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%), el solvente empleado fue etanol de 96° y el control negativo fue también el etanol de 96° y el control positivo fue el ciprofloxacino.

Con la ayuda de una pipeta automática se procedió a colocar en la placa excavada de porcelana los volúmenes correspondientes a las diferentes concentraciones.

- Se añadió 200 microlitros de etanol de 96° en un molde de la placa excavada como control positivo.
- Se añadió 200 microlitros de extracto etanólico puro (100%) en un molde de la placa excavada.
- Se utilizó 50 microlitros de etanol al 96° + 150 microlitros del extracto etanólico (75%) en un molde de la placa excavada.
- Se utilizó 100 microlitros de etanol al 96° + 100 microlitros del extracto etanólico (50%) en un molde de la placa excavada.
- Se utilizó 150 microlitros de etanol al 96° + 50 microlitros del extracto etanólico (25%) en un molde de la placa excavada.
- Se utilizó 180 microlitros de etanol al 96° + 20 microlitros del extracto etanólico (10%) en un molde de la placa excavada.

- Se utilizó 190 microlitros de etanol al 96° + 10 microlitros del extracto etanólico (5%) en un molde de la placa excavada.
- Se utilizó 200 microlitros de ciprofloxacino en un molde de placa excavada.

Finalmente se colocaron 5 discos de papel filtro con la ayuda de una pinza estéril en cada una de las concentraciones durante 5 minutos hasta que los discos de papel filtro absorbieran las muestras.

Prueba de sensibilidad antibacteriana- Se utilizó la técnica de cultivo por diseminación de la cepa (*Salmonella entérica typhimurium* ATCC 14028) en las placas Petri con agar Mueller-Hinton.

El sembrado se realizó en una cabina de flujo laminar, que fue previamente esterilizada. Para la realización del procedimiento se necesitó la ayuda de un hisopo estéril el cual se embebió en el cultivo bacteriano en 3 ocasiones y se realizó el cultivo por diseminación de forma homogénea en toda la superficie de cada placa Petri. Posteriormente, con la ayuda de una pinza esterilizada se colocó cuidadosamente los discos de papel filtro con las distintas concentraciones ya mencionadas. Se realizaron 5 repeticiones para cada concentración respectiva del extracto etanólico, en la superficie del agar se presionará levemente los discos con la ayuda de la pinza., como se especifica a continuación:

- En la primera placa se colocó un disco con etanol al 96° (disco control) + un disco con la concentración al 100% los cuales fueron colocados paralelamente en el centro de la placa Petri y enumerados (1 y 2) por 5 repeticiones.
- En la segunda placa se colocó un disco con la concentración al 75% + un disco con la concentración al 50% que se colocaron paralelamente en el centro de la placa Petri y se les numero (3; 4) por 5 repeticiones.
- En la tercera placa se colocó un disco con la concentración al 25% + un disco con la concentración al 10% que se colocaron paralelamente en el centro de la placa Petri y se les numero (5; 6) por 5 repeticiones.
- En la cuarta placa se colocó un disco con la concentración al 5% + un disco con el ciprofloxacino que se situaron paralelamente en el centro de la placa Petri y se le numero (7; 8) por 5 repeticiones.

Finalmente, las placas Petri serán selladas con parafilm y llevadas a la incubadora a 37°C por 72 horas.

Transcurrido las 72 horas se observa la formación de los halos de inhibición bacteriana y se procedió a realizar la lectura de los resultados obtenidos. Los halos de inhibición serán medidos con un vernier.

3.3. Población y muestra

Población: La población consistió en recolectar una pequeña cantidad de hojas y tallos de *Peperomia galioides kunth* (congona), del Centro poblado de Chinchipe, Distrito de Huayllapampa, Provincia de Recuay del Departamento de Ancash.

Muestra: Se recolectaron aproximadamente 6 Kg de hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona). Para la elaboración del extracto etanólico 50g de hojas secas en etanol 96%. Finalmente se obtuvo muestra 50 ml de extracto etanólico al 10% para realizar los diferentes análisis que se realizará en seguida.

3.4. Técnicas e instrumentos de Recolección de datos

Las técnicas que se empleó en la investigación fue observacional y los instrumentos que se emplearon fueron las fichas de recolección de datos (ver anexo B) en la que se registró todos los datos recopilados en los diferentes análisis.

3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.

Los resultados fueron procesados utilizando el programa estadístico: SPSS versión 24.0 y para determinar la distribución normal se usó el test de Shapiro-Wilk., la prueba de varianza (ANOVA) para realizar la comparación de las medias de todos los grupos del ensayo microbiológico del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) para determinar su efecto antibacteriano luego el test de Dunnet para hacer comparaciones múltiples de las medias de todos los grupos experimentales con un grupo control, se consideró un $p < 0,05$ como nivel de significancia y finalmente la prueba estadística T de Student para muestras independientes.

CAPITULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados.

□ **Marcha fitoquímica.**

Los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) como estudio preliminar, se muestran a detalle en la siguiente tabla.

TABLA 2
Marcha fitoquímica.

Fracción Resultado	Metabolito secundario	Reactivo	
A	Flavonoides	Shinoda	+++
	Aminoácidos	Ninhidrina	+++
	Taninos	Cloruro de hierro (III)	+++
	Taninos	Gelatina	+++
B	Esteroides	Liebermann Burchard	++
	Antraquinonas	Bontrager	++
C	Cardenólidos	Kedde	+
	Triterpenos	Liebermann Burchard	+++
	Esteroides	Liebermann Burchard	++
	Alcaloides	Dranguendorff	+
	Alcaloides	Mayer	+
D	Flavonoides	Shinoda	-
	Leucoantocianidinas	Rosenheim	-
	Cardenólidos	Kedde	+++
	Triterpenos	Liebermann Burchard	++
	Esteroides	Liebermann Burchard	-
E	Flavonoides	Shinoda	-
	Leucoantocianidinas	Rosenheim	-

Leyenda: (-) ausente, (+) leve, (++) moderado, (+++) abundante. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth*. Fuente: Elaboración propia de los autores.

La tabla anterior muestra que extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) presenta abundantes compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, cardenólidos y esteroides y en menor cuantía quinonas y alcaloides. No se evidenció la presencia de leucoantocianidinas.

□ **Prueba de solubilidad.**

Los resultados del ensayo de solubilidad del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) se muestran a detalle en la siguiente tabla.

TABLA 3
Prueba de solubilidad.

Solvente	Solubilidad
Hexano	+
Cloroformo	+++
Diclorometano	+
Etanol	+++
Metanol	+
Agua	-

Leyenda: ±: muy soluble (+++) soluble (++) poco soluble (+) insoluble (-). Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona), Fuente: Elaboración propia de los autores.

En la tabla anterior se muestra que el extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona) es muy soluble en disolventes de mediana polaridad como cloroformo y etanol. Además, presenta una mínima solubilidad en disolventes apolares como hexano y diclorometano también en metanol (disolvente polar). Esto muestra que el extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona) es una mezcla compleja de compuestos de naturaleza química muy variada.

□ Prueba de citotoxicidad

Los resultados del ensayo de citotoxicidad realizado al extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona) se muestran a detalle en la siguiente tabla.

TABLA 4
Prueba de citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de Peperomia galioides Kunth (Congona)

	Control con agua destilada					
	C1		C2		C3	
	R	H	R	H	R	H
1	27	3	22	2	35	4
2	15	2	19	3	35	4
3	22	3	22	3	16	4
4	14	4	20	3	15	3
5	23	3	18	2	16	3

	Muestras con extracto de congona					
	M1		M2		M3	
	R	H	R	H	R	H
1	27	3	22	2	35	4
2	15	2	19	3	35	4
3	22	3	22	3	16	4
4	14	4	20	3	15	3
5	23	3	18	2	16	3

En las 5 repeticiones para cada una de las Muestras (M1, M2 y M3) se obtuvo 0.0 milímetros de crecimiento tanto en R como H. R: radícula; H: hipocótilo. Prueba de citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona), Fuente: Elaboración propia de los autores.

La tabla anterior muestra que la radícula e hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa* crecieron 3.07 y 21.27 mm en el grupo control del ensayo de citotoxicidad realizado al extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona). Por otro lado, la tabla anterior nos muestra que en el ensayo de citotoxicidad realizado al extracto etanólico de

hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona), la radícula e hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa* no crecieron ningún mm en el grupo a la concentración 100 mg.

Prueba de normalidad

Para determinar la prueba estadística requerida para la prueba de hipótesis específica 3, se evaluó si la distribución de los resultados es normal. Para tal fin se usó el test de Shapiro-Wilk como se muestra en la siguiente tabla.

TABLA 5

Prueba de normalidad por el test de Shapiro-Wilk a los resultados del ensayo de citotoxicidad.

	Grupo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p-valor
Hipocótilo	Control	,815	15	,006
Radícula	Control	,857	15	,022

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que los resultados del hipocótilo del grupo control del ensayo de citotoxicidad realizado al extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona) tienen un p-valor menor al 0.05. Por esto, se deduce que esos resultados tienen una distribución no normal.

□ Ensayo microbiológico.

Los resultados del ensayo antibacteriano, *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona) frente a *Salmonella* entérica serotipo *typhimurium* ATCC 14028, se muestran a detalle en la siguiente tabla.

TABLA 6

Resultados del ensayo microbiológico.

Placa N°	Control	Extracto						Ciprofloxacino
		100%	75%	50%	25%	10%	5%	
1	12	32	25	15	7	6	8	43
2	12	30	24	15	7	9	7	44
3	13	31	25	14	10	8	8	43
4	13	30	23	15	8	9	8	41
5	15	32	23	13	9	9	8	38
Media	13.00	31.0	24.0	14.4	8.2	8.2	7.8	41.80
		0	0	0	0	0	0	

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides* Kunth (Congona) al 100, 75, 50, 25, 10 y 5 % generan halos de inhibición de 31.0, 24.0, 14.4, 8.2, 8.2 y 7.8 mm frente a *Salmonella* entérica serotipo *typhimurium* ATCC 14028, respectivamente. Pero el control positivo ciprofloxacino generó un halo de inhibición de 41.8 mm.

Prueba de normalidad del ensayo microbiológico

Para determinar la prueba estadística requerida para la prueba de hipótesis general y las hipótesis específicas 1 y 2, se evaluó si la distribución de los resultados es normal. Para tal fin se usó el test de Shapiro-Wilk como se muestra en la siguiente tabla.

TABLA 7

Prueba de normalidad por el test de Shapiro-Wilk de los resultados del ensayo microbiológico

	Grupos	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p-valor
Halo de inhibición	Control	,833	5	,146
	Ext 100%	,821	5	,119
	Ext 75%	,821	5	,119
	Ext 50%	,771	5	,056
	Ext 25%	,902	5	,421
	Ext 10%	,735	5	,051
	Ext 5%	,552	5	,050
	Ciprofloxacino	,877	5	,294

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que todos los grupos muestran un p-valor mayor o igual a 0.05.

Por esto, se deduce que los resultados del ensayo microbiológico del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) para determinar su efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028, presentan distribución normal.

4.2 Prueba de hipótesis

4.2.1 Hipótesis general

H₀: El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) no presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

H₁: El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

El ensayo microbiológico muestra que extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) al 100, 75, 50, 25, 10 y 5 % generan un halo de inhibición de 31.0, 24.0, 14.4, 8.2, 8.2 y 7.8 mm frente a *Salmonella* entérica serotipo *typhimurium* ATCC 14028, respectivamente. Pero el control positivo ciprofloxacino generó un halo de inhibición de 41.8 mm.

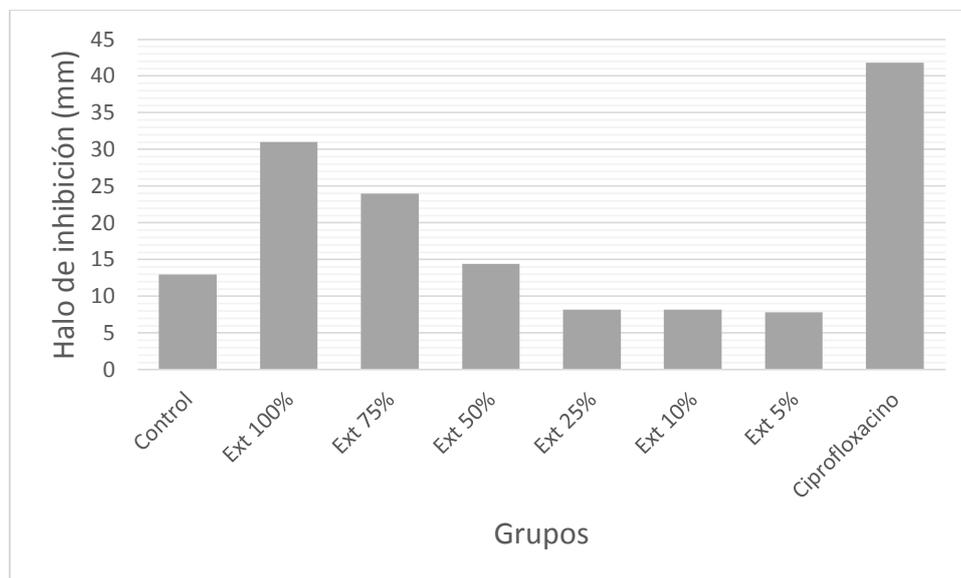


Figura 6 Diagrama de barras del resultado del ensayo microbiológico. Fuente: Elaboración propia

La figura anterior muestra que extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) al 100, 75 y 50% tienen un halo de inhibición medio mayor al que presenta el grupo control. Pero menor al que presenta el grupo control positivo, ciprofloxacino.

Los resultados del ensayo microbiológico del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) para determinar su efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Salmonella* entérica serotipo *typhimurium* ATCC 14028, presentan distribución normal. Por lo tanto, la prueba estadística utilizada para la prueba de esta hipótesis fue el análisis de varianzas (ANOVA). Ya que es una prueba estadística paramétrica que permite hacer comparación de las medias de todos los grupos como se muestra en la siguiente tabla.

TABLA 8

Análisis de varianzas de los resultados del ensayo microbiológico.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	5515,500	7	787,929	463,487	,000
Dentro de grupos	54,400	32	1,700		
Total	5569,900	39			

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que el p-valor es menor al 0.05. Por esto, se puede inferir que los halos de inhibición del ensayo microbiológico del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) para determinar su efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028 presentan diferencias estadísticamente significativas. Por lo tanto, extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula.

2.4.2 Hipótesis específicas

Hipótesis específica 1

H₀: El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) no presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* que ciprofloxacino, frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

H₁: El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* que ciprofloxacino, frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

Los resultados del ensayo microbiológico del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) para determinar su efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028, presentan distribución normal. Por lo tanto, la prueba estadística utilizada para la prueba de esta hipótesis fue el test de Dunnet. Ya que es una prueba estadística paramétrica que permite hacer comparaciones múltiples de las medias de todos los grupos experimentales con un grupo control positivo, ciprofloxacino como se muestra en la siguiente tabla.

TABLA 9

Comparaciones múltiples de los grupos experimentales frente al control positivo, por el test de Dunnet del ensayo microbiológico.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	p- valor	95% de intervalo de confianza
					Límite inferior
Control	Ciprofloxacino	-28,800	,834	1,000	-30,84
Ext 100%	Ciprofloxacino	-10,800	,834	1,000	-12,84
Ext 75%	Ciprofloxacino	-17,800	,834	1,000	-19,84
Ext 50%	Ciprofloxacino	-27,400	,834	1,000	-29,44
Ext 25%	Ciprofloxacino	-33,600	,834	1,000	-35,64
Ext 10%	Ciprofloxacino	-33,600	,834	1,000	-35,64
Ext 5%	Ciprofloxacino	-33,800	,834	1,000	-35,84

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que todos los p-valores son mayores a 0.05. Por esto, se puede inferir que extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) a las concentraciones de 100, 75, 50, 25, 10 y 5% presentan halos de inhibición menores o iguales a el control positivo ciprofloxacino.

Decisión: Se rechaza la hipótesis alternativa.

Hipótesis específica 2

H₀: El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) no presenta varias concentraciones con actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

H₁: El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) presenta varias concentraciones con actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

Los resultados del ensayo microbiológico del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) para determinar su efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028, presentan distribución normal. Por lo tanto, la prueba estadística utilizada para la prueba de esta hipótesis fue el test de Dunnet. Ya que es una prueba estadística paramétrica que permite hacer comparaciones múltiples de las medias de todos los grupos experimentales con un grupo control como se muestra en la siguiente tabla.

TABLA 10
Comparaciones múltiples por el test de Dunnet (>control).

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	P- valor.	95% de intervalo de confianza
					Límite inferior
Ext 100%	Control	18,000*	,834	,000	15,96
Ext 75%	Control	11,000*	,834	,000	8,96
Ext 50%	Control	1,400	,834	,203	-,64
Ext 25%	Control	-4,800	,834	1,000	-6,84
Ext 10%	Control	-4,800	,834	1,000	-6,84
Ext 5%	Control	-5,000	,834	1,000	-7,04
Ciprofloxacino	Control	28,800*	,834	,000	26,76

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que el del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) al 100 y 75% presentan p-valores menores al 0.05. Por esto, se puede inferir que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición de extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) a las concentraciones 100 y 75% frente al control y que los halos de inhibición del extracto al 100 y 75% son mayores que el que presenta el grupo control.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula

Hipótesis específica 3

H₀: El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) a 100 mg inhibe el crecimiento de las semillas de *Lactuca sativa*.

H₁: El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) a 100 mg no inhibe el crecimiento de las semillas de *Lactuca sativa*.

El ensayo de citotoxicidad muestra que la radícula e hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa* crecieron 3.07 y 21.27 mm en el grupo control. Pero que el extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) a la concentración 100 mg no evidenció crecimiento alguno en la radícula e hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa*.

Los resultados del ensayo de citotoxicidad del extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) a la concentración 100 mg, sobre las semillas de *Lactuca sativa*, presentaron distribución normal. Por esto, la prueba estadística utilizada para contrastar esta hipótesis fue el T de Student para muestras independientes. Ya que es una prueba

estadística paramétrica que permite hacer comparaciones entre las medias de dos grupos como se muestra en la siguiente tabla.

TABLA 11

T de Student para muestras independientes del ensayo de citotoxicidad.

		Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	p-valor	t	gl	p-valor	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Hipocótilo	Se asumen varianzas iguales	16,177	,000	16,877	28	,000	3,06667	,18170	2,69447	3,43887
	No se asumen varianzas iguales			16,877	14,000	,000	3,06667	,18170	2,67695	3,45638
Radícula	Se asumen varianzas iguales	20,490	,000	12,388	28	,000	21,26667	1,71677	17,75002	24,78331
	No se asumen varianzas iguales			12,388	14,000	,000	21,26667	1,71677	17,58456	24,94877

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que los p-valores del test de Levene son menores al 0.05. Por ello, se puede inferir que las varianzas no son iguales. También se muestra que los p-valores del T de Student son menores al 0.05. Por lo tanto, se puede inferir que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la longitud de crecimiento tanto de la radícula como hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa* entre extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) a la concentración 100 mg y el grupo control.

Decisión: Se rechaza la hipótesis alternativa.

4.3 Discusión de resultados

El tamizaje fitoquímico realizado con el extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) presenta compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, cardenólidos, esteroides, quinonas y alcaloides. Pero no se evidenció la presencia de leucoantocianidinas. Villegas (2001) Aislaron e identificaron compuestos terpénicos a partir del extracto etanólico de *Peperomia galioides* proveniente de la región Ancash, mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas. (Villegas et al., 2001) Esto apoya el resultado del tamizaje fitoquímico con el reactivo Liebermann-Burchard que identifica compuestos terpénicos generalmente como triterpenos y esteroides.

Mahiou et al (1995) Aislaron e identificaron 3 compuestos fenólicos isoprenilados a partir del extracto etanólico de *Peperomia galioides* proveniente de Bolivia, mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas. (Mahiou et al., 1995) también Mahiou et al (1996). Aislaron e identificaron 3 benzoquinonas isoprenilados a partir del extracto etanólico de *Peperomia galioides* proveniente de Bolivia, mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas. (Mahiou et al., 1996) Esto apoya los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de la presente tesis.

Aziba et al (2001) y Nishanthi et al (2012) evidenciaron que en las especies *Peperomia pellucida* y *Peperomia tetraphylla* provenientes de Nigeria y la India, también presentan alcaloides, quinonas, esteroides y compuestos fenólicos. (Aziba, Adedeji, Ekor, & Adeyemi, 2001; Nishanthi et al., 2012)

El ensayo microbiológico muestra que extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) al 100, 75, 50, 25, 10 y 5 % generan un halo de inhibición de 31.0, 24.0, 14.4, 8.2, 8.2 y 7.8 mm frente a *Salmonella enterica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028, respectivamente. Pero el control positivo ciprofloxacino generó un halo de inhibición de 41.8 mm.

Panda et al (2019) Evidenció la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico y éter de petróleo de *Piper longum* frente a cepas de *Salmonella enterica* mediante la técnica de Kirby-Bauer con discos de difusión en agar. (Panda, Mohanta, Padhi, & Luyten, 2019)

La medicina tradicional herbaria inspiró y fue fuente de antibacterianos para el tratamiento de infecciones producidas por *Salmonella entérica*, de importancia para la industria farmacéutica. Owhe-Ureghe y Akpo (2016) Evidenciaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Alchornea cordifolia* proveniente de Etiopía con un halo de inhibición de 33,7 mm frente a *Salmonella entérica* por el método de pozos de difusión en agar.

(Owhe-Ureghe & Akpo, 2016) Megeressa et al (2015) Evidenció la actividad antibacteriana del látex de *Aloe trigonantha* proveniente de Etiopía, con un halo de inhibición de 16,5 mm y un MIC de 50 µg/ml por el método de Kirby-Bauer con discos de difusión en agar y microdilución en caldo. (Megeressa, Bisrat, Mazumder, & Asres, 2015)

El ensayo de citotoxicidad muestra que la radícula e hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa* crecieron 3,07 y 21,27 mm en el grupo control. Pero que el extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) a la concentración 100 mg no evidenció crecimiento alguno en la radícula e hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa*. Apumayta (2019). Evidenció el efecto citotóxico del extracto hidroalcohólico de *Lessonia trabeculata* a 142.86 mg/ml sobre las semillas de *Lactuca sativa* con un 54,04 % y 7,89 % de inhibición en el hipocótilo y radícula. (Apumayta, 2019) Ainina et al (2018) Evidenció el efecto citotóxico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mangifera indica* a 71,43 mg/ml sobre las semillas de *Lactuca sativa* con un 7,22 % y 60,05 % de inhibición en el hipocótilo y radícula. (Ainina, Yusoff, Hashim, Sahid, & Fujii, 2018) La adaptación de los seres vivos a las diferentes adversidades da lugar a que algunas especies botánicas pueden inhibir el crecimiento de otras al competir por alimentos o producir sustancias que disminuyan el crecimiento de la otra. El el extracto etanólico de hojas de *Peperomia galioides Kunth* (Congona) a la concentración 100 mg inhibe el crecimiento de las semillas de *Lactuca sativa*.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) presenta actividad antibacteriana frente a *Salmonella entérica* serotipo *Typhimurium* ATCC 14028.

Al concretar la marcha fitoquímica como un estudio preliminar se determinó los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) evidenciando abundantes compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, cardenólidos y esteroides y en menor cuantía quinonas y alcaloides. No se evidenció la presencia de leucoantocianidinas

Los solventes usados en la prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (congona) determinó que son más solubles en cloroformo y etanol y que es insoluble en agua.

El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) al 100 y 75% presenta actividad antibacteriana *in vitro* con halos de inhibición de 31 y 24 mm frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) presenta menor actividad antibacteriana *in vitro* que ciprofloxacino, frente a *Salmonella entérica* serotipo *typhimurium* ATCC 14028.

El extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona) a 100 mg inhibe el 100% del crecimiento de las radículas e hipocótilos de las semillas de *Lactuca sativa*.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda a seguir con los estudios de investigación utilizando diferentes tipos de bacterias para estudiar su actividad biológica y química, con el fin de encontrar mejores resultados que puedan enriquecer el trabajo realizado.

Realizar estudios farmacológicos para determinar actividad antibacteriana frente a *Salmonella entérica* de otros órganos de *Peperomia galioides kunth* (Congona).

Realizar estudios de farmacotécnia para dar forma farmacéutica al extracto etanólico de las hojas de *Peperomia galioides kunth* (Congona).

Así mismo se recomienda emplear otro tipo de solventes en la maceración para extraer sus principios fitoquímicos y atribuir el efecto a uno de los compuestos de mayor cantidad presentes en el recurso vegetal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akinnibosun ,H.A. (2008). *Antibacterial Activity of aqueous and ethanolic leaf extracts of Peperomia pellucida (L.) H. B. & K. (Piperaceae) on three gram-negative bacteria isolates.* . Science World Journal., 33-36.
- Alfaro,T., y Garcia, R. (2018). *Screening fitoquímico y efecto analgésico del extracto hidroalcohólico de las hojas de Peperomia dolabrimorfis kunth en musculus Balb/c.*
- Ana, F., y Jordi, V. (2013). *Habilidades de Salmonella Enterica Serovar Typhimurium para tener éxito en el Huesped: Virulencia y regulación.* Clinical Microbiology Reviews., 2.
- Ayala, F. (2003). *Taxonomía Vegetal. Gymnospermae y Angiospermae de la Amazonia Peruana 2003.* Perú Primera Edic., pag, 71.
- Ayala, F. (2003). *Taxonomía Vegetal. Gymnospermae y Angiospermae de la amazonia peruana.* Peru: Primera.Edic, 69 p.
- Barreto M, C. (2016). 11. *BarreSalmonella enterica: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile.* Rev Chil infectol., 11.
- Barreto M, Castillo M, Retamal P. *Salmonella enterica: una revisión de la trilogía*547-557.
- Carvajal C, Q. (2012). *Caracterización fitoquímica, actividad antimicrobiana y antimicótica y antimicótica del esencial de congona (Peperomia ianequalifolia Ruiz & Pav.) piperaceae.*Tesis de Licenciatura. Quito., 9. Carvajal C, Quintero M. Caracterización fitoquímica, actividad antimicrobiana y antimicótica y antimicótica del esencial de congo163p.
- Casadevall, A. (2017). *Crisis in infectious diseases: 2 decades later.* Clin Infect Dis., 823–828.
- Cerón, C. (2006). *Botánica Económica de los Andes Centrales.* Eds Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia, 285-293.
- De Feo V, J. (2008). *Antibacterial Activity and Composition of the Essential Oil of Peperomia galioides HBK (Piperaceae) from Peru.* Natural Product Communications., 933–936.
- Donatien B, G. (2018). *Caracterización de gestantes con urosepsis y resistencia antimicrobiana de Escherichia coli.* Rev Inf Cient. , 184-195. .

- Gallegos M, G. (2017). *Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos Ecuador*. An Fac Med. 78(3), 315-321.
- García , R., y Alfaro, T. (2018). *Actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de Peperomia dolabriformis kunth frente a escherichia coli y candida albicans*.
- García, D.,Carreño, M.,Alcayaga,S.,y Ulloa, J. (2012). *Descripción clínica y epidemiológica de un grave brote de salmonelosis transmitida por alimentos*. Rev. chil. infectol. vol.29 no.2, 2.
- Huansha, P., y Villon, C. (2018).) *Actividad Cicatrizante del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de Peperomia congona sodiro (congona) en ratas albinas*.
- Idris , O., Olatunji, B., y Madufor, P. (2016). *In vitro Antibacterial Activity of the Extracts of Peperomia pellucida (L)*. British Microbiology Research Journal 11(4), 1-7.
- Jawetz, Melnick, y Alberberg. (2005.) *Microbiología Moderna*. (27th edición). Mexico: A lange medical book.
- Jimenes, S. (2013). *Participación de los metabolitos secundarios en defensa de las plantas*. Departamento de Biotecnología del Instituto Politécnico. Mexico.
- Junod, T., Lopez, J., y Gädicke, P. (2013). *estudio de susceptibilidad antimicrobiana de Salmonella entérica en muestras de origen animal y alimentario*. Rev Med Chile, 298-304.
- Jurado, R., Arenas, C., Doblas, A., Rivero, A., y Torre cisneros, J. (2010). *Fiebre tifoidea y otras infecciones por Salmonella*. Medicine.
- Mora, F. D., Velasco, J., Díaz, T., Rojas, L., Díaz, L., Ríos, N., y Carmona, J. (2016). *Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de Peperomia acuminata de los Andes venezolanos*. Venezuela, C.P. 5101: Facultad de Farmacia y Bioanálisis.
- Morales, D.(2018).*Evaluación de la Actividad Antimicrobiana del Extracto Hidroalcoholico Obtenido de la semilla del Lino (Linum usitatissimum), Frente a Salmonella Typhimurium (ATCC 14028) y Salmonella typhi (ATCC 9298)*. Universidad de Guayaquil, 16.
- Muños, F.(1996). *Plantas Medicinales y aromáticos: Estudio y cultivo y Procesado*. Ediciones Mundo Prensa.

- Nora, L., Ruiz, M. J., Ramallo, G., Colello, R., Villalobo, C., Monteavaro, C., y Etchevarria, A. (2018). *Diferentes métodos para aislamiento y detección de Salmonella spp. en canales porcinos*. Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. XX N°2, 118.
- Noriega, P., Mosquera, T., Manfredini, S., Baldisserotto, A., Abad, J., Piedra, J., Cabezas, D. (2015). *Chemical Composition and in-vitro biological activities of the essential oil from leaves of Peperomia inaequalifolia Ruiz & Pav.* 2. Ecuador; AJEONP:, 29-31.
- Ogunmoye, A., Oladosu, I., Atewolara, O. C., Olubomehin, O., Onajobi, I. B., y Tijani, S. (2018). *antimicrobial activities of essential oils from Peperomia pellucida (linn). leaf obtained in nigeria*. J. Chem Soc. Nigeria, Vol. 43, No. 4, 872-878.
- Oliveira M. (2005). *La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales*. Interciencia. Revista de Ciencia y Tecnología de América; 30(8):, 453-459.
- Procop, G., Church, D., Hall, G., Janda, W., Koneman, E., Schreekenberger, P., y Woods, G. (2018). *Diagnostico microbiologico* (septima edicion). barcelona: Wolters Kluyer.
- Quesada A, R. (2016). *Resistencia antimicrobiana de Salmonella spp aislada de alimentos de origen animal para consumo*. Rev Peru Med Exp Salud Publica; 33(1), 32-44.
- Ramos F., y Navarro C, R. F. (2017). *caracterización del aceite esencial de la especie Peperomia subspathulata (piperaceae) y evaluación de su capacidad como agente antimicrobiano*. Bogotá d.c.: universidad de ciencias aplicadas y ambientales (u.d.c.a) facultad de ciencias programa de química farmaceutica.
- Realpe, M., Muñoz, A., Donado, P., Rey, L., Diaz, P., y Arevalo, A. (2016). *Epidemiología de Salmonella spp., Listeria monocytogenes y Campylobacter spp., en la cadena productiva avícola*. Iatreia vol.29 no.4 Medellín Oct/ Dic., 1.
- Rodríguez, E., Arias, A., Sifontes, S., Luna, H., y Gaiti, J. (2010). *epidemiología*. Arch Venez Puer Ped v.73 n.1, 1.
- Rodríguez, N., Icochea, E., Calle, S., y Noé, N. (2006). *Estudio de inocuidad de Salmonella enterica, subespecie enterica, serotipo enteritidis, var. danysz, lisina negativa en pollos parrilleros*. Rev. Investig. Vet. Peru v.17 n.1 Lima ene/jun, 3.
- Romero P, B. (2019). *Bacterias relacionadas con vaginosis bacteriana y su asociación a la infección por virus del papiloma humano*. Med Clín., 1-5.

- Sáez, J. (2018). *Efecto de la concentración del aceite esencial de las hojas de Peperomia congona Sodiro (congona) sobre su actividad antimicrobiana. [Licenciatura]. Universidad Alas Peruanas. { Licenciatura}. Lima:, 92p.*
- Salvatierra, G., Rimac, R., Chero, A., Reyna, I., Rosadio, R., y Maturrano, L. (2018). *Resistencia antimicrobiana y genotipificación de cepas de Salmonella Typhimurium aisladas de cuyes (Cavia porcellus) provenientes de granjas de producción intensiva de la ciudad de Lima, Perú. Rev. investig. vet. Perú vol.29 no., 3.*
- Tarazona, O. (2018). *Actividad cicatrizante de la crema elaborada con el extracto etanólico de las hojas y tallos de Peperomia galioides kunth (congona) en heridas inducidas a Rattus norvegicus (ratas albinas) y su comparación con Multimycin.*
- Tebbs, M. (1993). *The Families and Genera of Vascular Plants. II. Flowering Plants - Dicotyledons.* Springer-Verlag, : Berlín. Isbn 3-540-55509-9.
- Tebbs. M, K. (1993). *The families and Genero of Vascular Plants. II. Flowering Plants- Dicotyledons.* Berlin: Springer-Verlag.
- Zuleica, G. (2010). *Enterobacterias antibioticoterapia.* Universidad autonoma de sinaloa, 5.

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERALIZACION DE VARIABLES	
¿Presentará actividad antibacteriana <i>In Vitro</i> el extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides Kunth</i> (Congona) frente a <i>Salmonella entérica</i> serotipo <i>Typhimurium</i> ATCC 14028?	Evaluar la actividad antibacteriana <i>In Vitro</i> del extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides Kunth</i> (Congona) frente a <i>Salmonella entérica</i> serotipo <i>Typhimurium</i> ATCC 14028.	El extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides Kunth</i> (Congona) presenta actividad antibacteriana <i>In Vitro</i> frente a <i>Salmonella entérica</i> serotipo <i>Typhimurium</i> ATCC 14028.	VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES
			Extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona).	Extracto de hoj de <i>Peperomia</i> (congona) Marcha Fitoquímico Solubilidad Ensayo de toxicidad
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVO ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICA	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES
1. ¿El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona) será mayor a ciprofloxacino frente a <i>Salmonella entérica</i> serotipo <i>typhimurium</i> ATCC 14028?	1.Demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona) que será mayor a ciprofloxacino frente a <i>Salmonella entérica</i> serotipo <i>typhimurium</i> ATCC 14028.	1.El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona) poseerá mayor actividad antibacteriana que el ciprofloxacino frente a <i>Salmonella entérica</i> serotipo <i>typhimurium</i> ATCC 14028.		
2.¿Qué concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona) poseerá mayor actividad antibacteriana <i>in Vitro</i> ante <i>Salmonella entérica</i> serotipo <i>typhimurium</i> ATCC 14028?	2.Evaluar la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona) que poseerá mayor actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Salmonella entérica</i> serotipo <i>typhimurium</i> ACTT 14028.	2.La concentración etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona) al 100% poseerá mayor actividad antibacteriana <i>in Vitro</i> frente a <i>Salmonella entérica</i> serotipo <i>typhimurium</i> ACTT 14028	1.-Actividad antibacteriana	Cepa de <i>Salmonella</i> subsp. <i>entérica</i> <i>typhimurium</i> ATCC 14028
3. ¿Cuál será la actividad citotóxica del extracto etanólico de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona) frente a semillas de lechuga?	3.Demostrar la actividad citotóxica del extracto etanólico de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona) frente a semillas de lechuga.	3.El extracto etanólico de las hojas de <i>Peperomia galioides kunth</i> (congona) presenta elevada actividad citotóxica frente a semillas de lechuga.	5. ensayo de diluciones.	Cepa de <i>Salmonella</i> subsp. <i>entérica</i> <i>Typhimurium</i> ATCC 14028

ANEXO B. Instrumentos. **Ficha para marcha fitoquímica**

Fracción	Metabolito secundario	Reactivo	Resultados
A	Flavonoides Aminoácidos Taninos Taninos	Shinoda Ninhidrina Cloruro de hierro (III) Gelatina	
B	Esteroides Antraquinonas	Liebermann Burchard Bontrager	
C	Cardenólidos Triterpenos Esteroides Alcaloides	Kedde Liebermann Burchard Liebermann Burchard Mayer	
D	Flavonoides Leucoantocianidinas Cardenolidos Triterpenos Esteroides Alcaloides	Shinoda Rosenheim Kedde Liebermann Burchard Liebermann Burchard Wagner	
E	Flavonoides Leucoantocianidinas	Shinoda Rosenheim	

 Ficha para prueba de solubilidad.

Solvente	Solubilidad	Resultados
Hexano		
Cloroformo		
Diclorometano		
Etanol		
Metanol		
Agua		

 Ficha para prueba de citotoxicidad

	Control con agua destilada					
	C1		C2		C3	
	R	H	R	H	R	H
1						
2						
3						
4						
5						
	Muestras con extracto de congona					
	M1		M2		M3	
	R	H	R	H	R	H

R: radícula
H: hipocótilo.

Ficha para prueba de actividad antibacteriana.

Placa N°	Control	Extracto						Ciprofloxacino
		100%	75%	50%	25%	10%	5%	
1								
2								
3								
4								
5								
Media								

ANEXO C. Data consolidado de resultados.

Resultados de Marcha fitoquímica

Fración	Metabolito secundario	Reactivo	Resultado
A	Flavonoides	Shinoda	+++
	Aminoácidos	Ninhidrina	+++
	Taninos	Cloruro de hierro (III)	+++
	Taninos	Gelatina	+++
B	Esteroides	Liebermann Burchard	++
	Antraquinonas	Bontrager	++
C	Cardenólidos	Kedde	+
	Triterpenos	Liebermann Burchard	+++
	Esteroides	Liebermann Burchard	++
	Alcaloides	Dranguendorff	+
	Alcaloides	Mayer	+
D	Flavonoides	Shinoda	-
	Leucoantocianidinas	Rosenheim	-
	Cardenólidos	Kedde	+++
	Triterpenos	Liebermann Burchard	++
	Esteroides	Liebermann Burchard	-
	Alcaloides	Dranguendorff	-
E	Flavonoides	Shinoda	-
	Leucoantocianidinas	Rosenheim	-

Leyenda: (-) ausente, (+) leve, (++) moderado, (+++) abundante.

Fuente: Elaboración propia de los autores.

□ **Resultados de prueba de solubilidad.**

Solvente	Solubilidad
Hexano	+
Cloroformo	+++
Diclorometano	+
Etanol	+++
Metanol	+
Agua	-

Leyenda: ±: muy soluble (+++) soluble (++) poco soluble (+) insoluble (-).

Fuente: Elaboración propia de los autores.

□ **Resultados de prueba de citotoxicidad**

	Control con agua destilada					
	C1		C2		C3	
	R	H	R	H	R	H
1	27	3	22	2	35	4
2	15	2	19	3	35	4
3	22	3	22	3	16	4
4	14	4	20	3	15	3
5	23	3	18	2	16	3

	Muestras con extracto de congona					
	M1		M2		M3	
	R	H	R	H	R	H

R: radícula; H: hipocótilo.

Fuente: Elaboración propia de los autores.

□ **Resultados de prueba de actividad antibacteriana.**

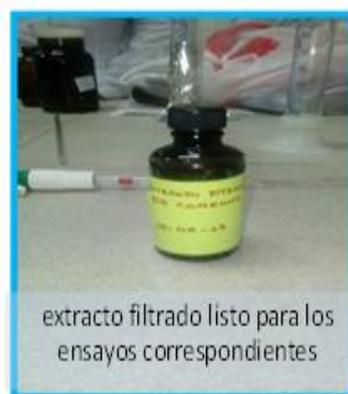
Placa N°	Control	Extracto						Ciprofloxacino
		100%	75%	50%	25%	10%	5%	
1	12	32	25	15	7	6	8	43
2	12	30	24	15	7	9	7	44
3	13	31	25	14	10	8	8	43
4	13	30	23	15	8	9	8	41
5	15	32	23	13	9	9	8	38
Media	13.00	31.00	24.00	14.40	8.20	8.20	7.80	41.80

Fuente: Elaboración propia de los autores.

ANEXO D: Cronograma de actividad experimental

ACTIVIDADES	MESES																											
	Setiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero				Febrero							
	SEMANAS																											
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
Identificación taxonómica	■	■	■																									
Obtención del extracto etanólico				■	■																							
Proceso de la marcha fitoquímica						■	■	■	■																			
Prueba de solubilidad										■																		
Prueba citotóxica											■	■																
Prueba antibacteriana													■	■	■													
Análisis de datos																		■	■	■								
Resultados																			■	■								
Informe																									■	■	■	

ANEXO E: Testimonios fotográficos





esterilización de todos los materiales a utilizar



materiales colocados en la estufa a 180°C por 1 hora



preparación del caldo



el caldo es llevado al autoclave a 121°C



cultivo de la cepa salmonella enterica typhimurium ATCC 14028



preparado de las distintas concentraciones del extracto de



sembrado en las placas petri con el agar de salmonella enterica typhimurium ATCC 14028



placas puestas a incubadora a 37°C por 72 horas



lectura del crecimiento de los halos de inhibición



muestra que sera llevada para ser secada



tubos de ensayo con la muestra seca



tubos de ensayo con los resultados



Rvo. SHINGDA

FRACCION-A



Rvo. FeO

FRACCION-A



Rvo. NITRATO

FRACCION-A



Rvo. GELATINA

FRACCION-A

Rvo. SHINGDA



Rvo. KEDDE

FRACCION-C



Rvo. LIEBERMANN

FRACCION-C



Rvo. MAYER

FRACCION-C



Rvo. WAGNER

FRACCION-C



FRACCION-D

Rvo. SHINGDA



FRACCION-D

Rvo. ROSENHEIN



FRACCION-D

Rvo. KEDDE



FRACCION-D

Rvo. LIEBERMANN



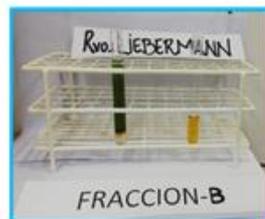
FRACCION-D

Rvo. MAYER



Rvo. BORNTÄGER

FRACCION-B



Rvo. LIEBERMANN

FRACCION-B



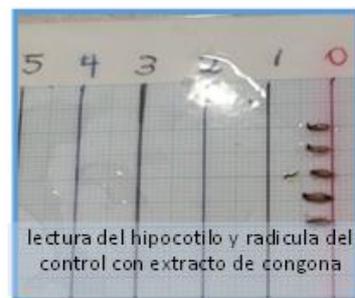
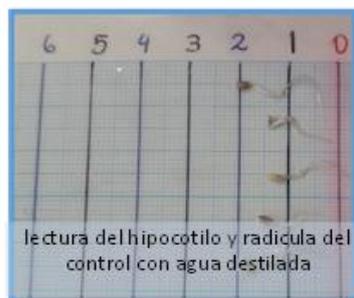
FRACCION-E

Rvo. SHINGDA



FRACCION-E

Rvo. ROSENHEIN



ANEXO F. Juicio de expertos.

ANEXO F: Juicio de Expertos

FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

DATOS GENERALES

Apellidos y nombres del experto: Cachicatan Quispe Franklin Javier
 Grado académico: Universitario (Químico Farmacéutico)
 Cargo e institución donde labora: Especialista en Asuntos Regulatorios - Digemid.
 Título de la Investigación: Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de hojas de Peperomia galioides kunth (congona) en Salmonella enterica serotipo typhimurium ATCC 14028.
 Autor del instrumento: Hinojosa Silva Leonides Martín; Pérez Cabrera Gerardo Manuel.
 Nombre del instrumento: Ficha de Validación

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy Buena 61-80%	Excelente 81-100%
CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					96%
OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					96%
ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					96%
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					96%
SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					96%
INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					96%
CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					96%
COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					96%
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					96%
CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					96%
SUB TOTAL						96%
TOTAL						96%

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 19

VALORACION CUALITATIVA: Excelente.

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable- Aprobado

Lugar y fecha: Lima 14-02-20


 Firma y Esfirma del experto
 DNI: 43183076

ANEXO F: JUICIO DE EXPERTOS

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

DATOS GENERALES

Apellidos y nombres del experto: ...CORDOVA ROJAS DANTE LUIS.

Grado académico: ... DOCTOR.(Ref. Sunedu-2020)

Cargo e institución donde labora: UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA LIMA SUR-UNTELS

Título de la Investigación: *ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE HOJAS DE PEPEROMIA GALIODES KUNTH(CONGONA) EN SALMONELLA ENTERICA SEROTIPO TYPHIMURIUM -ATCC 14028*

Autor del instrumento: *PEREZ CABRERA GERARDO MANUEL; HINOSTROZA SILVA LEONIDES MARTIN*

Nombre del instrumento: FICHA DE VALIDACION.

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				X	
OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.			X		
ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.				X	
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				X	
SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.				X	
INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.				X	
CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.				X	
COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.				X	
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.				X	
CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					X
SUB TOTAL					X	
TOTAL					X	

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): MUY BUENO

VALORACION CUALITATIVA: 16

OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

TRABAJO DE INVESTIGACION APLICABLE, SE BASA EN LOS USOS DE PLANTAS MEDICINALES CON ACCIONES ANTIBACTERIANAS EN ESTE CASO PARA SALMONELLA ENTERICA.

INVESTIGACION: TIPO EXPERIMENTAL Y APLICABLE A LA CARRERA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

Lugar y fecha: LIMA 11 DE MAYO 2020


 DR. Q-F. CORDOVA ROJAS DANTE LUIS
 C.Q-F.P. 05884
 DNI: 06691116-

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

III. DATOS GENERALES

- 3.1 Apellidos y nombres del experto: CHAVEZ PÉREZ JORGE ANTONIO
- 3.2 Grado académico: Magister en Biorquímica
- 3.3 Cargo e institución donde labora: Profesor Principal Universidad Agraria la Molina
- 3.4 Título de la Investigación: Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las Hojas de Piperomia gubata Kunth (Congen) y Salmonella enterica serotipo typhimurium atcc 14028.
- 3.5 Autor del instrumento: Pérez Casaca Gerardo Manuel; Huastaca Silva Leovigoes
- 3.6 Nombre del instrumento: Ficha de Recolección de datos

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
21. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					✓
22. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					✓
23. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					✓
24. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					✓
25. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					✓
26. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					✓
27. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					✓
28. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					✓
29. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					✓
30. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					✓
SUB TOTAL						
TOTAL						100%

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 90

VALORACION CUALITATIVA: EXCELENTE

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICABLE

Lugar y fecha: LIMA 25/02/2020.

Firma y Posfirma del experto

DNI: 06 634755

JORGE CHAVEZ PEREZ

ANEXO G. Certificado de la muestra biológica (Bacteria).

Microbiologics	
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release	
Specifications Microorganism Name: Salmonella enterica subsp. enterica serovar Infantis Catalog Number: 0363 Lot Number: 363-374** Reference Number: ATCC® 14028™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/11/30 Release Information: Quality Control Technologist: Niesha L. Negen Release Date: 2018/12/13
Performance	
Macroscopic Features: Medium, gray/white, circular, slightly irregular edges, convex colonies Microscopic Features: Gram negative straight rods ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
Other Features/Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Hektoen Enteric agar: good growth, blue-green colonies with black centers (1) Salmonella O antiserum Factor O:4 (included in group B): positive (1) Salmonella O antiserum Factor O:5 (included in group B): positive (1) Salmonella O antiserum Factor O:12 (included in group B): positive <div style="text-align: right;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>	
<p>**Disclaimer: The last eight(s) of the lot number appearing on the product label and packing also are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual sales lot number.</p> <p>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.</p> <p>⬇ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and safety/labeling information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">  <small>ATCC Licensed Derivative</small> </div> <div> <p>(1) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog number are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® strains.</p> <p>(1) These tests are accredited to ISO15189:2013.</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <small>TESTING CERT #2855-01</small> </div> </div>	
<p>© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved, 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC.286</p>	

ANEXO H. Constancia de Clasificación Taxonómica de la muestra vegetal.



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 182-USM-2019

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 (rama estéril) recibida de **Gerardo Manuel Pérez Cabrera y Leonides Martín Hinostroza Silva**, estudiantes de la Universidad Interamericana para el Desarrollo; ha sido estudiada y clasificada como: ***Peperomia galioides Kunth*** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: PIPERALES

FAMILIA: PIPERACEAE

GENERO: *Peperomia*

ESPECIE: *Peperomia galioides Kunth*

Nombre vulgar: "congona"

Determinado por: Mg. Asunción Cano E. y Mg. Guillermo Pino I.

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

Lima, 04 de junio de 2019

ACE/ddb



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