

## AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, MUNDACA CORONEL ROSA CELINA, con DNI 60969155, en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL EN FARMACIA Y BIOQUIMICA de título "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE CYMBOPOGON CITRATUS (HIERBA LUISA) FRENTE A Escherichia coli ATCC25922, IN VITRO", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO<sup>1</sup> que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 19% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 16 días del mes de DICIEMBRE del año 2022.



---

MUNDACA CORONEL ROSA CELINA  
DNI. 60969155



---

Mg. PABLO ANTONIO LA SERNA LA ROSA  
DNI: 06121495

---

<sup>1</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 1742019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo

## AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, NABBY CHEYNI IPANAQUE RODAS, con DNI 70087176, en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL EN FARMACIA Y BIOQUIMICA de título "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE CYMBOPOGON CITRATUS (HIERBA LUISA) FRENTE A Escherichia coli ATCC25922, IN VITRO", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO<sup>2</sup> que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 19% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 16 días del mes de DICIEMBRE del año 2022.

---

NABBY CHEYNI IPANAQUE RODAS  
DNI. 70087176

---

Mg. PABLO ANTONIO LA SERNA LA ROSA  
DNI: 06121495

---

<sup>2</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 1742019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

## 19.10.2022. TESIS FINAL - IPANAQUE-MUNDACA

### INFORME DE ORIGINALIDAD



### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.uroosevelt.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>9%</b>
<b>2</b>	<b>repositorio.uma.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>6%</b>
<b>3</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>4</b>	<b>mejorconsalud.as.com</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>5</b>	<b>cienciaunemi.unemi.edu.ec</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>dspace.espol.edu.ec</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>7</b>	<b>repositorio.usanpedro.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>

Excluir citas      Activo

Excluir bibliografía      Activo

Excluir coincidencias      < 1%



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

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE  
LAS HOJAS DE *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (HIERBA  
LUISA) FRENTE A *Escherichia coli* ATCC25922, *IN VITRO***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO**

**AUTORES**

**Bach. MUNDACA CORONEL, ROSA CELINA**

<https://orcid.org/0000-0003-4096-3007>

**Bach. IPANAQUE RODAS, NABBY CHEYNI**

<https://orcid.org/0000-0003-0948-3785>

**ASESOR**

**Mg. LA SERNA LA ROSA, PABLO ANTONIO**

<https://orcid.org/0000-0001-7065-012X>

**LIMA – PERÚ**

**2023**

## DEDICATORIA

A Jehová Dios, por la vida y la oportunidad que me brinda para llegar hasta aquí y lograr uno de mis sueños.

A mi tío Carlos Rodas Rodas, a mi madre Mariela Rodas Rodas por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más, por el apoyo emocional y económico.

A José Cesar Flores Rabanal quien estuvo a mi lado en todo momento y así poder lograr mi objetivo; mis hermanos: Stefany, Enoc, Jesús y a toda mi familia que es lo mejor y lo más valioso que Jehová Dios me ha dado.

***Nabby Cheyni Ipanaque Rodas***

Esta tesis lo dedico a mi madre quien con sus sabios consejos a logrado formarme con valores y buenos hábitos. quien desde muy pequeña me enseñó a nunca rendirme, siendo una de las personas a quien yo más admiro por su valentía y coraje para enfrentar los caminos de la vida. por sus desvelos por acompañarme en mis noches de estudio.

A mi padre por sus consejos, su atención.

También dedico a mi familia: mi esposo porque me brindo todo su apoyo durante el periodo universitario, mi proyecto de tesis y mi hijito, quienes día a día me impulsan a lograr mis objetivos y por quienes me siento fortalecida

A mis hermanitas que en todo momento me alentaron a perseverar en mis metas hasta lograrlo.

***Mundaca Coronel, Rosa Celina***

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, agradecemos a Dios por ser tan bondadoso, por darnos fuerza y capacidad para culminar nuestros estudios universitarios y concluir con nuestro proyecto.

A nuestros profesores que nos impartieron conocimiento y ejemplo de superación.

A la Universidad, mi alma mater, por darnos los conocimientos que sirvieron para desenvolvernos en el campo profesional de nuestra carrera

***Las autoras***

## ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN.....	XI
ABSTRACT .....	XII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	8
2.1. Enfoque y diseño de la investigación .....	8
2.2. Población, muestra y muestreo.....	8
2.3. Variables de investigación .....	9
2.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos .....	9
2.5. Plan metodológico para la recolección de datos .....	10
2.6. Procesamiento de los análisis estadísticos .....	13
2.7. Aspectos éticos .....	14
III. RESULTADOS .....	15
IV. DISCUSIÓN .....	22
4.1. Discusión de Resultados .....	22
4.2. Conclusiones.....	24
4.3. Recomendaciones.....	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
ANEXOS .....	30

## ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon Citratus</i> "hierba luisa" frente a diferentes solventes.	15
Tabla 2. Metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon Citratus</i> "hierba luisa" que presentan actividad antibacteriana	16
Tabla 3. Análisis estadístico descriptivo de los datos recolectados	17
Tabla 4. Análisis de la distribución normal de los datos analizados por grupo de trabajo.	18
Tabla 5. Análisis de la homogeneidad de varianzas para los grupos de trabajo	18
Tabla 6. Análisis de la varianza (ANOVA)	19
Tabla 7. Análisis por subgrupo homogéneos mediante la prueba de Tukey	20
Tabla 8. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	20

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon Citratus</i> "hierba luisa" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC	17
Figura 2. Recolección de la muestra	39
Figura: 3. Preparación de la muestra	39
Figura 4. Maceración de la muestra en estudio	41
Figura 5. Filtración del macerado	41
Figura 6. Evaporación del solvente	42
Figura 7. Preparación de los extractos	42
Figura 8. Estudio de solubilidad	42
Figura 9. Estudio fitoquímico	43
Figura 10. Activación de la cepa	43
Figura 11. Preparación del cultivo bacteriano	44
Figura 12. Sembrado en placa	44
Figura 13. Aplicación del extracto en cultivos de <i>Escherichia coli</i>	45
Figura 14. Lectura de halos de inhibición	45

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Páginas
Anexo A. Instrumento de recolección de datos	30
Anexo B. Matriz de consistencia	31
Anexo C. Operacionalización de las variables	32
Anexo D. Carta de presentación	33
Anexo E. Carta de aceptación del propietario del terreno	34
Anexo F. Certificado ATCC de la cepa	35
Anexo G. Certificación Botánica	37
Anexo H. Base de datos SPSS	38
Anexo I. Evidencias fotográficas de la investigación	39

## RESUMEN

**Objetivo:** Demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *in vitro*.

**Método:** El estudio presenta un enfoque cuantitativo, de corte transversal, prospectivo con diseño experimental, la población de estudio estuvo conformada por *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" obtenidos del fundo San Salvador, distrito y provincia de Ferreñafe del departamento de Lambayeque, se obtuvo el extracto etanólico a partir de las hojas de la planta mediante maceración con etanol 96° y el efecto antibacteriano se determinó mediante la valoración del tamaño del halo de inhibición formado aplicando el método de difusión en pozo, el análisis estadístico se realizó con un nivel de confianza del 95% empleando pruebas inferenciales como Anova y Tukey.

**Resultados:** El extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" resultó ser soluble a metanol, etanol, acetona y medianamente soluble al agua destilada y alcohol ter-butílico; se identificaron como metabolitos secundarios compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides y triterpenos; el extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" al 60%, 80% y 100% presento halos de inhibición de 11,33mm; 12,81mm y 13,47mm respectivamente sobre *Escherichia coli* y el ciprofloxacino presentó mayor efecto antibacteriano que los extractos con halo de inhibición promedio de 28,31mm

**Conclusión:** El extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" a las concentraciones de estudio presentó efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *in vitro*.

**Palabras clave:** *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, efecto antibacteriano, *Escherichia coli*, hierba luisa

## ABSTRACT

**Objective:** To demonstrate the antibacterial effect of the ethanolic extract of the leaves of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "Herba Luisa" against *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

**Method:** The study presents a quantitative, cross-sectional, prospective approach with experimental design, the study population was made up of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" obtained from the San Salvador estate, district and province of Ferreñafe in the department of Lambayeque, the ethanolic extract from the leaves of the plant by maceration with 96° ethanol and the antibacterial effect was determined by assessing the size of the inhibition halo formed by applying the well diffusion method, the statistical analysis was performed with a confidence level 95% using inferential tests such as Anova and Tukey.

**Results:** The ethanolic extract of the leaves of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "herba luisa" was found to be soluble in methanol, ethanol, acetone and moderately soluble in distilled water and tert-butyl alcohol; phenolic compounds, alkaloids, flavonoids and triterpenes were identified as secondary metabolites; the ethanolic extract of the leaves of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "herba luisa" at 60%, 80% and 100% presented inhibition halos of 11.33mm; 12.81mm and 13.47mm respectively on *Escherichia coli* and ciprofloxacin had a greater antibacterial effect than the extracts with an average inhibition halo of 28.31mm

**Conclusion:** The ethanolic extract of the leaves of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "Herba Luisa" at the study concentrations presented an antibacterial effect against *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

**Keywords:** *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, antibacterial effect, *Escherichia coli*, lemon verbena

## 1. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales grupos bacterianos causantes de producir infecciones por consumo de alimentos contaminados son las enterobacterias y habitan el tracto gastrointestinal de los mamíferos. Muchas veces, este grupo de especies muestra una relación simbiótica con sus huéspedes. Sin embargo, algunos grupos pueden ser patógenos para los seres humanos, como la *Escherichia coli* productora de toxina Shiga y la *Escherichia coli* enteroagregativa. La presencia de estos grupos representa un riesgo directo para la población, y los serotipos recientes que muestran la presencia de genes patógenos en ambos grupos son un desafío novedoso para la producción de alimentos. Asimismo, con la aparición de mutaciones entre diferentes especies, ha llevado a la evolución de este organismo hacia cepas patógenas capaces de causar enfermedades y síndromes de importancia para la salud pública en humanos<sup>1</sup>.

A nivel mundial *Escherichia coli* es considerada como una de las especies principales, causantes de Enfermedades Transmitidas por alimentos, produciendo cuadros clínicos que comienzan con una diarrea leve hasta síntomas más graves como diarrea con sangre, colitis hemorrágica hasta síndrome urémico hemolítico. El Centro para la Prevención y Control de Enfermedades en los Estados Unidos, en el año 2019, aseguró en que un promedio de 113.000 infecciones y 300 hospitalizaciones ocurren cada año, como consecuencia de los 6 principales serogrupos de *Escherichia coli*. Además, las infecciones diarreicas asociadas a *Escherichia coli*, representan un problema crítico en los países con nivel económico bajo o medio (en Asia, África y América Latina)<sup>2</sup>.

Por otro lado, en el Perú a través, de un estudio en el Hospital Cayetano Heredia (2017) se logró identificar que las cepas de *Escherichia coli* han creado multiresistencia a los antibióticos como los betalactámicos, Trimetropin + Sulfametoxazol, ampicilina, Ciprofloxacino, Ceftriaxona, Amikacina y Nitrofurantoina, causando dificultades en su tratamiento. Asimismo, indicaron que esta resistencia ha sido reportada desde hace 10 años<sup>3</sup>.

De acuerdo con la realidad referida, *Escherichia coli* es una bacteria con capacidad de multiresistencia a los fármacos antibacterianos, por ello, la presente investigación

buscará demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *in vitro*.

Dentro del marco teórico definiremos las siguientes variables: *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" es una hierba perenne con hojas diminutas, largas y en forma de aguja. Las hojas en forma de correa miden entre 1,3 y 2,5cm de ancho, 0,9 cm de largo con puntas sueltas y una coloración verde azulada brillante con un aroma cítrico cuando se muelen, debido a la presencia de citral y al alto contenido de neral y aldehído geranial. El limbo de la hoja mide entre 18 y 36 cm con nervadura paralela y vistosas características de caída. No producen flores. La inflorescencia mide aproximadamente 30-60 cm con racimos pares de espiguillas. La planta crece en matas fértiles y puede alcanzar alrededor de 1,8 m y 1,2 m de alto y ancho, respectivamente. La planta crece bien en suelo franco arenoso fértil (pH de 2 a 12) con humedad constante<sup>4</sup>.

El potencial terapéutico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, está asociada a la presencia de fitoquímicos o metabolitos secundarios. Estos compuestos se distribuyen uniformemente en las plantas medicinales. Los compuestos importantes como fitoesteroles, antocianinas, aminoácidos, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos, componentes volátiles, ácidos grasos, fumesol, flavonoides, aldehído isovaleránico, metilheptenona, ésteres valéricos, L-linanol, furfurool, isopulegol, ácido p-cumárico han sido aislado y caracterizado de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Además, las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa", contiene una alta composición de aceite esencial, cuyos metabolitos son: citral (mezcla de terpenoides y geranial), mycrene, genariol, citronelol (cymbopogonol y cymbopogone) y  $\alpha$ -oxobisabolene. Su contenido varía según la especie de planta y la ubicación geográfica<sup>4,5</sup>.

*Escherichia coli* es un organismo gramnegativo que forma parte de la microbiota intestinal comensal normal de poblaciones humanas sanas. Sin embargo, algunas cepas pueden causar infecciones intestinales o extraintestinales debido a factores de virulencia específicos. Los aislamientos que son capaces de acceder y sobrevivir en el torrente sanguíneo se conocen como *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC) y causan una variedad de infecciones, incluidas infecciones del tracto urinario (ITU), sepsis neonatal y meningitis. El sitio extraintestinal más comúnmente colonizado por estas bacterias es el tracto urinario, que a su vez es una fuente común de infecciones del torrente sanguíneo<sup>6</sup>.

Según la clasificación filogenética, *E. coli* se divide en 7 grupos (A, B1, B2, C, D, E y F). Los grupos patógenos de las cepas ExPEC generalmente pertenecen a los grupos B2 y D, y las cepas comensales que sobreviven en el intestino, es decir, las cepas no patógenas, generalmente se incluyen en los grupos A o B1. Las cepas de *Escherichia coli* tienen varios factores de virulencia que pueden desempeñar un papel en la infección al permitir que las células bacterianas colonicen al huésped y se diseminen. Los factores de virulencia se codifican en el cromosoma bacteriano, donde generalmente se ubican dentro de islas de patogenicidad o en plásmidos, estos factores virulentos incluyen moléculas de adhesión, sistemas de adquisición de hierro, mecanismos de subversión de defensa del huésped y toxinas<sup>6,7</sup>.

Los metabolitos: Las plantas producen miles de diferentes tipos de productos químicos, algunos de estos son compuestos orgánicos como carbohidratos, grasas, proteínas, ácidos nucleicos, clorofilas, los cuales son necesarios para sus procesos metabólicos básicos y se encuentran en todo el reino vegetal, estos compuestos orgánicos se llaman **metabolitos primarios** o biomoléculas, estos se producen en grandes cantidades y se pueden extraer fácilmente de las plantas. Por otro lado, muchas plantas, hongos y microbios de ciertos géneros y familias sintetizan una serie de compuestos orgánicos que no están involucrados en el metabolismo primario (fotosíntesis, respiración y metabolismo de proteínas y lípidos) y parecen no tener una función directa en el crecimiento y desarrollo de las plantas, dichos compuestos se denominan **metabolitos secundarios** (productos vegetales secundarios o productos naturales), esto se producen en pequeñas cantidades en partes específicas de las plantas y su extracción es difícil y costosa; químicamente se agrupan en 3 tipos, los isoprenoides o terpenos, por ejemplo, caucho, esteroides, aceites esenciales, pigmentos carotenoides; los compuestos que contienen nitrógeno, por ejemplo, alcaloides, glucosinolatos, glucósidos, aminoácidos no proteicos y los compuestos fenólicos, por ejemplo, lignina, taninos, cumarinas, aflatoxinas, flavonoides (antocianinas)<sup>8,9</sup>.

Ciprofloxacino es un medicamento con propiedades antibióticas que pertenece a la familia de las fluoroquinolonas, es un medicamento antibacteriano de amplio espectro, es decir, es bastante eficaz contra las enfermedades causadas por bacterias grampositivas y gramnegativas; esta característica lo diferencia de otros medicamentos de la familia de antibióticos quinolonas, ya que la mayoría son efectivos solo contra las bacterias de Gram negativas; en cuanto a sus indicaciones, generalmente se prescribe para el tratamiento de infecciones urinarias moderadas, así como para el tratamiento de cistitis aguda e infecciones del tracto respiratorio inferior, infecciones de la piel e infecciones óseas y articulares. Ciprofloxacino, considerado un referente a la hora de comparar nuevas fluoroquinolonas, ya que comparte con estos agentes un mecanismo de acción común: la inhibición del ADN girasa. La ciprofloxacina es una quinolona que contiene ciclopropil, ácido carboxílico, fluoro y sustituyentes de piperazina-1-il en las posiciones 1, 3, 6 y 7, respectivamente. Tiene un papel como agente antiinfeccioso, un inhibidor de la topoisomerasa IV, un fármaco antibacteriano, un inhibidor de la EC 5.99.1.3 [ADN

topoisomerasa (ATP-hidrolizante)], un inhibidor de la síntesis de ADN, un agente antimicrobiano, un contaminante ambiental y un xenobiótico<sup>10,11</sup>.

Por otra parte, en los antecedentes internacionales relacionados a nuestro estudio citamos a, **Minor H.**, que en el 2020 determinó in vitro el efecto del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* "hierba luisa" sobre *Listeria monocytogenes* NCTC 11994. Los resultados del estudio indicaron que en las concentraciones del aceite a 10,000mg/L, 2000mg/L y 500mg/L inhibió significativamente a *Listeria monocytogenes* y en las concentraciones de 50mg/L, 100mg/L también se pudo apreciar inhibición de la bacteria<sup>12</sup>.

**Vélez R. y col.**, en el año 2018, analizaron los metabolitos responsables de la actividad antimicrobiana y letalidad del extracto metanólico de las hojas de *Cymbopogon Citratus* "hierba luisa" y *Melissa officinalis* "toronjil". En los extractos de hierba luisa y toronjil se observó presencia de esteroides, triterpenos, fenilpropanoides y catequinas; ambos extractos en concentraciones de 20 y 40mg/mL presentaron actividad contra cepas de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, formando halos de 14, 31 y 36mm respectivamente para el extracto de hierba luisa de 20mg/ml<sup>13</sup>.

**También, Azuero A. y col.**, en el 2016, publicaron su investigación para determinar por el método de Kirby-Bauer el efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral, *L. citriodora*, *A. artemisifolia*, *T. officinale*, *A. conyzoides*, *P. carpunya*, *B. officinalis*, *C. sativum*, *M. officinalis*, *Cymbopogon citratus* S (hierba luisa), *A. absinthium*, *M. charantia* y *M. oleífera* contra *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*. Con respecto a la hierba luisa, presenta efecto antibacteriano contra las tres cepas trabajadas y efecto antifúngico contra *C. albicans*, formando un halo contra *E. coli* entre 8 a 10mm<sup>14</sup>

Asimismo, los antecedentes nacionales que se relacionan con nuestro estudio, se muestran a continuación, **Huamán H. y col.**, el año 2020, en su publicación evaluaron la capacidad antioxidante por DPPH y la actividad antibacteriana (*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*) por difusión en disco del extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon Citratus* "hierba luisa". De acuerdo, a los

resultados el extracto etanólico presentó mayor capacidad antioxidante que el extracto acuoso; el extracto acuoso de hierba luisa no presentó actividad contra las dos bacterias en estudio, sin embargo, el extracto etanólico si presentó efecto sobre estas dos bacterias a partir de la concentración del 25%<sup>15</sup>.

Del mismo modo, **Quintos D.** el 2019 tuvo por objetivo determinar el efecto antibacteriano, por el método de Kirby-Bauer, del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* "hierba luisa" contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro. Los resultados demostraron que el aceite esencial de hierba luisa a una concentración del 100% formó un halo promedio de inhibición de 18mm, por lo tanto, si presenta efecto antibacteriano contra cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175<sup>16</sup>.

Por su parte, **Cabrera C.**, en el 2019, evaluó la actividad antimicrobiana de una mezcla en cantidades iguales de extracto de semillas de *Citrus paradisi* y aceites esenciales de *Luma chequen*, *Melaleuca alternifolia* y *Cymbopogon citratus* frente a *Escherichia coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* y *A. niger*. Los resultados obtenidos mediante el método de difusión en pozo, con respecto al aceite de hierba luisa solo, mostraron un halo inhibitorio para *E. coli* de 9.67mm y combinado con otros compuestos de 13mm, concluyendo que la mezcla si presenta actividad antimicrobiana frente a todos los microorganismos mencionados<sup>17</sup>.

Como objetivo principal para el presente estudio se planteará, demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

La hipótesis general planteada en el estudio es: El extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" presenta efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Enfoque y diseño de la investigación

Enfoque cuantitativo: Debido que los datos recolectados se analizaron mediante análisis estadístico, para lograr determinar la hipótesis del estudio empleando análisis estadístico.

Transversal: Porque, el proceso de recolección de datos fue elaborado en un determinado periodo de tiempo

Prospectivo: Porque, el estudio fue realizado en un tiempo futuro al planteamiento del estudio.

Experimental: Porque, las variables del estudio fueron modificadas o alteradas en su naturaleza con el objetivo de realizar un estímulo sobre una de ellas y demostrar su influencia en la otra variable<sup>18,19</sup>.

### 2.2 Población, muestra y muestreo

**Población:** La población de estudio estuvo conformada por 5 kilogramos de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" las cuales se recolectaron del fundo San Salvador, distrito y provincia de Ferreñafe del departamento de Lambayeque, ubicado a 6,6409° de latitud Sur y 79,7763° de longitud Oeste, a una altura de 0 msnm.

**Muestra:** se representó con 2 kilogramos de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" previa selección de estas.

#### **Criterios de inclusión:**

- Hojas que presenten las mismas características de tamaño y apariencia.
- Hojas que hayan sido previamente identificadas taxonómicamente.
- Las muestras ser frescas y recién recolectadas.

### **Criterios de exclusión:**

- Muestras recolectadas de diferentes lugares.
- Muestra de otra especie.
- Muestra contaminada.

**Muestreo:** Se elaboró mediante la técnica de muestreo no probabilístico, debido a que se tomó en consideración las condiciones favorables al investigador en la recolección<sup>20</sup>.

### **2.3 Variables de investigación**

**Variable independiente:** Extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa". Producto obtenido del proceso de maceración de la muestra vegetal con etanol.

**Definición conceptual:** Producto obtenido del proceso de maceración de la muestra vegetal con etanol.

**Definición operacional:** Proceso de maceración con etanol

**Variable dependiente:** Efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. Acción de disminuir o evitar el crecimiento de las bacterias.

**Definición conceptual:** Acción de disminuir o evitar el crecimiento de las bacterias

**Definición Operacional:** Acción de disminuir o evitar el crecimiento de las bacterias

### **2.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos**

**Técnicas:** La técnica utilizada fue la observación directa para determinar las modificaciones de las variables.

### **El instrumento es la Ficha de recolección de datos Microbiológica:**

A través, de este instrumento se plasmó la información referida al tamaño en milímetros (mm) de los halos inhibitorios el extracto, los cuales fueron comparados con los halos del control negativo (etanol) y control positivo (ciprofloxacina).

## **2.5 Plan metodológico para la recolección de datos**

### **Elaboración del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa**

Las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” fueron recolectadas directamente de la zona de cultivo el día 07 de octubre del 2022 a las 08:44 horas y luego transportadas en bolsas de papel al laboratorio para iniciar la selección de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión, posteriormente fueron lavadas y desinfectadas con agua e hipoclorito de sodio respectivamente y puestas a secar a temperatura ambiente bajo sombra a temperatura ambiente, posteriormente se llevó a estufa a 45°C para su secado y deshidratación completa y luego se llevaron a un molino de cuchillas para su pulverizado y tamizado; el pulverizado fue colocado en maceración en un frasco ámbar con capacidad para 4 litros y se agregó etanol 96°, por un periodo de 10 días, cada 12 horas se tuvo que mezclar el contenido para uniformizar la mezcla y lograr que el solvente absorba los principios por igual.

Luego de este periodo de tiempo, el macerado pasó a un proceso de filtrado y luego fue evaporado en una estufa a 45°C hasta obtener el extracto el que fue reconstituido con etanol considerando las concentraciones de 100mg/ml (100%), 80mg/ml (80%) y 60mg/ml (60%) para luego evaluar su actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*.

### **Prueba de solubilidad**

La prueba de solubilidad fue realizada según el método propuesto por Pacheco C. (2021)<sup>21</sup>. Se evaluó el grado de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” por medio de dilución directa colocando en 7 tubos de ensayo, 1 ml del extracto y 1 ml de etanol 96°, metanol, alcohol ter-butílico, éter, acetona, cloroformo y

Dimetilsulfoxido. Se evaluó el grado de disolución de la mezcla según sea Soluble, Medianamente soluble e Insoluble.

### **Marcha fitoquímica**

Se realizó la marcha fitoquímica según el método empleado por Soto M (2015)<sup>22</sup> mediante reacciones de coloración con reactivos específicos empleando el extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" de la siguiente manera:

**Ensayo de Dragendorff.** Se emplea para la identificación de alcaloides en la muestra analizada, se agregará 0.5 ml del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa, en un tubo de ensayo y luego se agregará II gotas del reactivo de Dragendorff, la formación de un precipitado naranja o turbidez confirma la presencia de alcaloides.

**Ensayo de Baljet.** Este ensayo permite determinar cumarinas o compuestos con grupos lactónicos. En una muestra de 0.5 ml del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa, se agrega III gotas del reactivo de Baljet y se agita suavemente, la presencia de una coloración o precipitado es confirmatorio para esta reacción.

**Ensayo de Borntrager.** Este ensayo permite identificar quinonas. En una muestra de 0.5 ml del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa se agregará 0.5 ml de una solución de NaOH (10%), si aparece un color rosado-rojo en la fase acuosa confirma la reacción.

**Ensayo de Liebermann-Burchard.** Permite la identificación de triterpenos o esteroides, debido a la presencia del núcleo de androstano. En una muestra de 0.5 ml del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa se agrega 0.5 ml del reactivo de Liebermann-Burchard, un color rojo en la interfase

muestra una reacción positiva.

**El ensayo de Shinoda.** Este ensayo se emplea para determinar la presencia de flavonoides. En un tubo se agrega 0.5 ml del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa y luego se agrega 0.5 ml de alcohol isoamílico, la presencia de una coloración amarilla, naranja o roja, indica una reacción positiva.

**El ensayo de antocianidinas.** Esta reacción también permite identificar flavonoides que presenten la secuencia en su estructura C6-C3-C6 del flavonoide. En un tubo con 0.5 ml del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa se agrega 11 gotas del reactivo en mención. La coloración roja o marrón mostrará la presencia de flavonoide.

**El ensayo de espuma.** Se emplea para determinar la existencia de saponina. La presencia de espuma luego de agitar el tubo por más de 2 minutos, confirma la reacción.

### **Actividad antibacteriana**

Para determinar la actividad antibacteriana, se obtuvo la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 por intermedio del laboratorio Microbiológico Microclin SRL. La cepa se activó por disolución con agua esteril y luego fue sembrada en placa petri con medio de cultivo agar MacConkey selectivo para bacterias Gram negativas entéricas a 37°C por 24 horas hasta que se formen las colonias de la cepa.

Para la preparación del Agar MacConkey, se pesaron 49.53 gramos y se disolvieron en 1000ml de agua destilada con agitación constante y con ayuda del calor, después fueron llevadas a esterilización por 15 minutos en el equipo de autoclave bajo las condiciones de presión de 15 libras y 121°C, paso siguiente, se dejó enfriar hasta una temperatura aproximada de 50°C y se vertió en las placas Petri, este proceso debió ser realizado en la cabina microbiológica, que reúna las condiciones estériles necesarias.

Después de observarse la formación de las colonias de *E. coli* en las placas con agar MacConkey, se procedió a preparar el inóculo bacteriano; con un

hisopo estéril de microbiología se tomó una muestra de las colonias y luego fueron introducidas en un tubo de ensayo con agua estéril, se realizaron varias diluciones hasta alcanzar una concentración bacteriana similar al tubo control 0.5 de la escala de McFarland, el cual corresponde a una concentración bacteriana de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL, este procedimiento se realizó por comparación visual directa.

A partir del inóculo obtenido se sembró *Escherichia coli* en 15 placas Petri con agar Müller Hinton el cual se emplea para estudios realizar pruebas de susceptibilidad de antibióticos, utilizando la técnica de Kirby-Bauer en pozo, para lo cual se utilizó un sacabocado de 6mm de diámetro para realizar los pocitos dentro de cada placa y se agregó en cada pocito 30µl del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" en las concentraciones de 60%, 80% y 100%. Todas las placas fueron llevadas a la incubadora por 24 horas a 37°C, transcurrido este tiempo se observó la formación de los halos de inhibición alrededor de cada pocito inoculado con el extracto.

Para el control positivo y negativo se utilizaron 15 placas Petri, cada una con dos pocitos inoculados con 30µl ciprofloxacino (100mg/ml) y de agua destilada.

La recolección de los datos se tomó de la medida realizada por el equipo vernier digital, con el cual se midió los halos inhibitorios en milímetros(mm) formados alrededor del pozo, estos datos quedaron anotados en la ficha recolectora de datos para el análisis microbiológico.

La medida del halo de inhibición estuvo relacionada de forma directa a la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa"

## **2.6 Procesamiento de los análisis estadísticos**

Los datos recogidos y consignados en la ficha de recolección de datos fueron procesados en software estadístico llamado SPSS versión 26, este programa analizó los datos y se obtuvo una estadística descriptiva, además

se realizaron las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas, finalmente se hizo uso de las pruebas de ANOVA y Tukey el nivel de significancia de todas las pruebas será de 0.05<sup>23</sup>.

## **2.7 Aspectos éticos**

La presente investigación se elaboró respetando los aspectos éticos y normativos establecidos por la universidad, así mismo, se responsabiliza por el contenido y originalidad de la información brindada, sometiéndonos a evaluación de similitud o plagio que las políticas de la universidad exige; del mismo modo, el contenido que presente la investigación es de entera responsabilidad de los autores, sometiéndonos al comité de ética de la universidad en caso de incumplir alguna norma<sup>24</sup>.

### III. RESULTADOS

**Tabla 1. Solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” frente a diferentes solventes.**

Tubo	Solvente	Solubilidad
N°1	Agua destilada	-
N°2	Metanol	++
N°3	Etanol	++
N°4	Alcohol ter-butílico	+
N°5	Acetona	++
N°6	Cloroformo	-
N°7	Hexano	-

Leyenda:

- ✓ (++): soluble
- ✓ (+): medianamente soluble
- ✓ (-): insoluble

**Interpretación:**

**Tabla 1**, la determinación de la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” se realizó frente a solventes polares y no polares, presentando ser **soluble** el extracto a metanol, etanol, y acetona; es **medianamente soluble** al agua destilada, alcohol ter-butílico y es **insoluble** frente a solventes como cloroformo y hexano.

**Tabla 2. Metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” que presentan actividad antibacteriana**

Metabolitos Secundarios	Reactivos	Reacción	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	Color naranja ladrillo	+
Saponinas	Espuma	Formación de espuma	-
Compuestos fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	Coloración rojo-vinoso	++
Aminoácidos	Ninhidrina	Coloración azul violeta	-
Flavonoides	Antocianidina	Anillo marrón	+
Triterpenos / Esteroides	Liebermann Burchard	Coloración rojiza	+
Quinonas	Borotrager	Coloración rosa-rojizo	-
Mucílagos		Aspecto gelatinoso	-

Leyenda:

- ✓ (++): Abundante
- ✓ (+): Presencia
- ✓ (-): Ausente

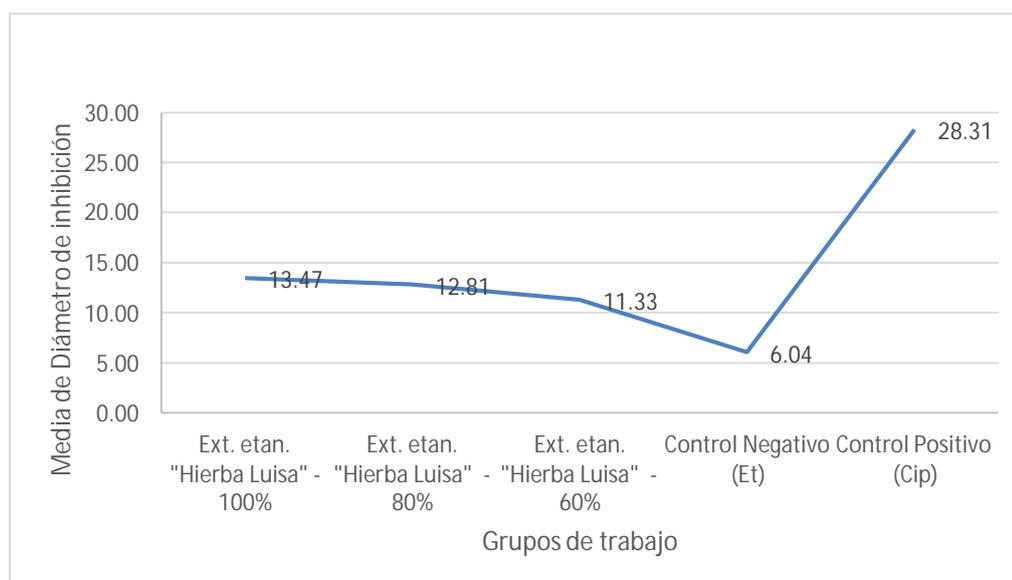
Tabla 2, se aprecia los resultados obtenidos luego del estudio fitoquímico realizado al extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” donde se observan los metabolitos identificados, los que pueden presentar actividad antibacteriana, entre los encontrados tenemos según intensidad abundantes a compuestos fenólicos, también existe presencia de alcaloides, flavonoides y triterpenos; por otro lado, no se identificaron saponinas, aminoácidos, quinonas y mucilagos.

**Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” al 60%, 80% y 100% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *in vitro*.**

**Tabla 3. Análisis estadístico descriptivo de los datos recolectados**

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo
					Limite inferior	Limite superior		
Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	10	13,47	0,25	0,08	13,29	13,65	13,02	13,83
Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	10	12,81	0,48	0,15	12,46	13,15	12,20	13,75
Ext. etan. "Hierba Luisa" - 60%	10	11,33	0,43	0,14	11,02	11,63	10,58	12,12
Control Negativo (Et)	10	6,04	0,38	0,12	5,77	6,31	5,34	6,68
Control Positivo (Cip)	10	28,31	0,37	0,12	28,04	28,57	27,62	28,71

**Fuente: SPSS ver. 26**



**Figura 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” frente a *Escherichia coli* ATCC**

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

**Tabla 3**, se muestran los estadígrafos obtenidos de los datos recolectados de 10 repeticiones para cada grupo experimental y control (media, desviación estándar, límites de confianza, etc), obteniendo como resultados para los grupos de tratamientos: 11,33mm DS: 0,43mm (60%); 12,81mm DS: 0,48mm (80%); 13,47mm DS: 0,25mm (100%); con respecto a los grupos control se obtuvo 6,04mm DS:

0,38mm (Negativo) y 28,31mm DS: 0,37mm (Positivo). En la **figura 1**, se observa del mismo modo, los promedios de los halos de inhibición de cada grupo, observándose una diferencia notoria entre los grupos experimentales y control, así mismo, una relación directa entre el efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* y la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa".

**Tabla 4. Análisis de la distribución normal de los datos analizados por grupo de trabajo.**

		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm)	Grupos de trabajo			
	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	0,968	10	0,872
	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	0,953	10	0,704
	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 60%	0,969	10	0,881
	Control Negativo (Et)	0,971	10	0,897
	Control Positivo (Cip)	0,883	10	0,140

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Tabla 4, se muestra el análisis de los datos para la determinación de la distribución normal de cada grupo de trabajo mediante la prueba de Shapiro Wilk, se observa en todos los casos valores de significancia superiores al valor de 0,05; por lo tanto, se confirma que existe distribución normal en grupos de datos procesados.

**Tabla 5. Análisis de la homogeneidad de varianzas para los grupos de trabajo**

		Levene			
		Statistic	df1	df2	p-valor
Diámetro del halo de inhibición	Se basa en la media	0,920	4	45	0,461
	Se basa en la mediana	0,690	4	45	0,603
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,690	4	39,645	0,603
	Se basa en la media recortada	0,855	4	45	0,498

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

**Tabla 5**, se muestra el análisis de los datos para la determinación comparativa de las varianzas homogéneas mediante la prueba de Levene, en cada grupo de trabajo mediante la prueba de Shapiro Wilk, donde el valor de significancia obtenido basado en la media de los grupos de datos es de 0,55, valor superior a la significancia del estudio, por lo que se confirma que existen varianzas homogéneas en los grupos de datos analizados.

**Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” con Ciprofloxacino 500 mg frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *in vitro*.**

**PRUEBAS DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS:**

**H0:** El extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” no presenta mayor efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *in vitro* que Ciprofloxacino 500 mg

**H1:** El extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf “hierba luisa” presenta mayor efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *in vitro* que Ciprofloxacino 500 mg.

**Tabla 6. Análisis de la varianza (ANOVA)**

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
<b>Entre grupos</b>	2760,845	4	690,211	4539,723	0,000
<b>Dentro de grupos</b>	6,842	45	0,152		
<b>Total</b>	2767,687	49			

**Fuente: SPSS ver. 26**

Interpretación:

**Tabla 6**, se muestra el análisis de los datos mediante la prueba de ANOVA que permite demostrar la existencia de diferencias estadísticamente significativa entre los grupos de datos analizados, la tabla ANOVA muestra un p-valor de 0,00; para un valor F: 4539,723; que confirma que los grupos presentan diferente efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*.

Análisis:

Siendo el p-valor (0,00) inferior al valor de significancia del estudio, se cumple que existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores de los halos promedio de los grupos de datos analizados.

**Tabla 7. Análisis por subgrupo homogéneos mediante la prueba de Tukey**

Diámetro de inhibición						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo (Et)	10	6,04				
Ext. etan. "Hierba Luisa" - 60%	10		11,32			
Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	10			12,80		
Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	10				13,46	
Control Positivo (Cip)	10					28,30
<b>Sig.</b>		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

**Fuente: SPSS ver. 26**

Interpretación:

En la tabla 7, se muestra el análisis por subgrupos homogéneos que representa el resumen del análisis de comparaciones múltiples de Tukey, donde permite comparar de manera más simple los valores promedio de los halos de inhibición, los que se encuentran agrupados en columnas

Análisis:

Del análisis de los datos se demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre todos los valores promedio de los halos de inhibición, así mismo, se observa que la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *In vitro*, es mayor en el ciprofloxacino.

Decisión: Se rechaza la hipótesis H1 y acepta la H0, que indica que el extracto de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" no presenta mayor efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro que Ciprofloxacino 500 mg.

**Tabla 8. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd**

Tratamiento	Sensibilidad nula < 8 mm	Sensible 8-14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Sumamente sensible > 20 mm
Control Negativo (Et)	6,04			
Ext. etan. "Hierba Luisa" - 60%		11,32		
Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%		12,80		
Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%		13,46		
Control Positivo (Cip)				28,30

Interpretación:

**Tabla 8**, se muestra la escala valorativa de Duraffourd para determinar la sensibilidad de *Escherichia coli* a los extractos etanólicos de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa", donde se observa que este microorganismo presenta sensibilidad nula al control negativo (etanol); es sensible al extracto etanólico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" al 60%, 80% y 100%, y sumamente sensible al ciprofloxacino.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de Resultados

Las plantas medicinales siempre han sido fuente de numerosos principios activos que se ha empleado la industria farmacéutica para combatir las infecciones bacterianas, debido a la resistencia bacteriana que estos microorganismos están produciendo los medicamentos actuales son ineficaces para combatir estas bacterias, por lo que es necesario iniciar la búsqueda de nuevas fuentes, en tal sentido, la presente investigación muestra los resultados encontrados mediante un estudio in vitro al exponer los extractos etanólicos de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" a diferentes concentraciones, frente a *Escherichia coli*.

En primer lugar, se realizó un estudio de la solubilidad del extracto etanólico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa", el cual se expuso a diferentes solventes de distinta polaridad, el extracto mostró ser soluble frente a metanol, etanol, y acetona; fue medianamente soluble al agua destilada, alcohol ter-butílico e insoluble a solventes como agua destilada, cloroformo y hexano.

En cuanto al estudio fitoquímico realizado se encontró en el extracto etanólico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" posee metabolitos secundarios como compuestos fenólicos en abundante cantidad y existe también presencia de alcaloides, flavonoides y triterpenos; por otro lado, no se logró identificar saponinas, aminoácidos, quinonas y mucilagos; similar resultado encontró Vélez y colaboradores (2018), en el extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" demostrando presencia de esteroides, triterpenos, fenilpropanoides y catequinas, sin embargo, no refiere presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides lo que se debe a la facilidad que tienen el etanol de extraer este tipo de compuestos a diferencia del metanol.

El efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon*

*citratum* (DC.) Stapf "hierba luisa" al 60%, 80% y 100% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *in vitro* fue evaluado mediante la medición directa de los halos de inhibición formados por cada extracto y grupos control, donde se observó la formación de un diámetro de 11,33mm DS: 0,43mm para el extracto al 60%; de 12,81mm DS: 0,48mm para el extracto al 80%; y de 13,47mm DS: 0,25mm para el extracto al 100%; con respecto a los grupos control se obtuvo 6,04mm DS: 0,38mm (Control Negativo) y 28,31mm DS: 0,37mm (Control Positivo), estos resultados se corroboran con Vélez y colaboradores (2018) donde quien encontró halos de inhibición de 14,31 mm para el extracto metanólico de *Cymbopogon Citratum*, también refiere Azuero (2016) halos de inhibición entre 8 mm a 10 mm para las concentraciones ensayadas de 60% y 100% del extracto etanólico de *Cymbopogon Citratum* frente a *Escherichia coli*, además también observó efecto antimicótico contra *Candida albicans*.

Así mismo, el efecto antibacteriano que presenta *Cymbopogon citratum* (DC.) Stapf "hierba luisa" también fue evaluado en su forma de aceite sobre bacterias Gram-positivas como *Listeria monocytogenes* por Minor (2020), donde observó que a las concentraciones de 50mg/L y 100mg/L se presenta inhibición de la bacteria.

Al parecer el efecto antibacteriano depende del tipo de solvente empleado, ya que este determina el tipo de metabolitos extraídos, tal es el caso del estudio realizado por Huamán y colaboradores, donde evaluó el efecto antibacteriano del extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon Citratum* "hierba luisa" frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, no presentando efecto el extracto acuoso, pero si el extracto etanólico frente a ambos microorganismos.

Por otro lado, el aceite esencial de *Cymbopogon Citratum* "hierba luisa" también presenta efecto antibacteriano como lo demostró Quintos (2019) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con formación de halo de inhibición de 18 mm y Cabrera (2019) frente a *Escherichia coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* y *A. niger*, obteniendo halo inhibitorio para *E. coli*

de 9.67mm.

Por otro lado, al comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" a las concentraciones del 60%, 80% y 100% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 con ciprofloxacino, se pudo demostrar mediante la prueba de ANOVA y Tukey que los extractos no superan el efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* que posee el ciprofloxacino.

Además, la sensibilidad que presentó *Escherichia coli* ATCC 25922 a los grupos de tratamiento se evaluó mediante la escala de Duraffourd, donde se pudo observar que esta bacteria presenta sensibilidad nula al control negativo (etanol); es sensible al extracto etanólico de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" al 60%, 80% y 100%, y sumamente sensible al ciprofloxacino.

## 4.2 Conclusiones

- El extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" resultó ser soluble (++) a metanol, etanol, acetona y medianamente soluble (+) al agua destilada y alcohol ter-butílico.
- El extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" presentó compuestos fenólicos en cantidad abundante (++), así mismo, presencia (+) de alcaloides, flavonoides y triterpenos como metabolitos secundarios.
- El extracto etanólico de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" al 60%, 80% y 100% presentan efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro al mostrar halos de inhibición de 11,33mm; 12,81mm y 13,47mm respectivamente.
- El extracto de las hojas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" no presenta mayor efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro que Ciprofloxacino 500 mg, el cual mostro halo de inhibición de 28,31mm.

### 4.3 Recomendaciones

- El campo de aplicación de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf "hierba luisa" generalmente se basa en la alimentación sin explotar sus propiedades medicinales que pueden aprovecharse, por lo tanto, se recomienda profundizar mediante trabajos de investigación las propiedades medicinales que presenta esta planta.
- Promover en los servicios de salud el uso de preparados magistrales con extractos y aceites de plantas medicinales que ayuden al tratamiento de los pacientes con diferentes infecciones.
- A los organismos de salud promover el uso de la medicina natural antes que el tratamiento farmacológico de mayor costo y contraindicaciones en casos leves.
- Realizar investigaciones que demuestren el sinergismo o beneficios del tratamiento farmacológico junto con el tratamiento mediante plantas medicinales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Paletta Ana, Castro Vinicius, Conte-Junior. Shiga Toxin-Producing and Enteroaggregative *Escherichia coli* in Animal, Foods, and Humans: Pathogenicity Mechanisms, Detection Methods, and Epidemiology. *Current Microbiology* 2019 77:4 [Internet]. 2019 Dec 13 [cited 2022 May 10];77(4):612-20. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-019-01842-1>
2. Acuña P, Florentín M, Rojas N, Rodríguez F, Guillén R, Florentín M, et al. Estandarización de una técnica de PCR múltiple para la detección de los serogrupos O157, O104 y "big six" de *Escherichia coli* productora de la toxina Shiga (STEC). *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud* [Internet]. 2019 Aug 12 [cited 2022 May 10];17(2):71-6. Available from: [http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1812-95282019000200071&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1812-95282019000200071&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
3. Yábar M, Curi B, Torres C, Calderón R, Riveros M, Ochoa T. Multiresistance and factors associated with the presence of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains isolated from urine culture. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* [Internet]. 2017 Oct 1;34(4):660-5. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v34n4/a12v34n4.pdf>
4. Oladeji O, Adelowo F, Ayodele D, Odelade K. Phytochemistry and pharmacological activities of *Cymbopogon citratus*: A review. *Sci Afr* [Internet]. 2019 Nov 1;6:e00137. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468227619306982>
5. Majewska E, Kozłowska M, Gruczynska E, Kowalska D, Tarnowska K. Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil: Extraction, composition, bioactivity and uses for food preservation - A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* [Internet]. 2019;69(4):327-41. Available from: <https://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-51f64fb0-5c3a-4585-9735-993b6e946eca>

6. Reuter A, Virolle C, Goldlust K, Berne-Dedieu A, Nolivos S, Lesterlin C. Direct visualisation of drug-efflux in live *Escherichia coli* cells. *FEMS Microbiology Reviews* [Internet]. 2020 Nov 24;44(6):782-92. Available from: <https://academic.oup.com/femsre/article/44/6/782/5881934?login=false>
7. Daga A, Koga V, Soncini J, de Matos C, Perugini M, Pelisson M, et al. *Escherichia coli* Bloodstream Infections in Patients at a University Hospital: Virulence factors and clinical characteristics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [Internet]. 2019;9(JUN). Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2019.00191/full>
8. Manisha M. Metabolitos secundarios: significado, función y tipos [Internet]. 2019 [cited 2022 Jun 21]. Available from: <https://www.biologydiscussion.com/biomolecules/secondary-metabolites-biomolecules/secondary-metabolites-meaning-role-and-types/44935>
9. Bruneton J. *Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas medicinales*. 2da ed. Editorial Acribia, S.A.; 2010.
10. Autino J, Romanelli G, Ruiz. Diego. *Introducción a la Química Orgánica*. Primera. Argentina: Editorial de la Universidad de La Plata; 2013. 425 p.
11. Wade L. *Química Orgánica*. sexta. Vol. 2, Pearson. Mexico; 2012. 372 p.
12. Minor H. Estudio in vitro del efecto del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (AECC) en el control de *Listeria monocytogenes* NCTC 11994. *CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias* [Internet]. 2020 Jan 6;9(17):44-58. Available from: <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/3651/Monografia%20aceites%20esenciales%20final.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
13. Vélez R, d'Armas H, Jaramillo C, Vélez E. Metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de las hojas de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil). *FACSALUD-UNEMI* [Internet]. 2018 Jul 16;2(2):31-9. Available from: <https://ojs.unemi.edu.ec/index.php/facsalud-unemi/article/view/727/967>

14. Azuero A, Jaramillo C, San Martín D, Darmas H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI* [Internet]. 2016;9(20):11-8. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/5826/582663826003.pdf>
15. Huamán H, Balcazar C, Chávez S, Auquiñivin E. Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon citratus*. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*. 2021 Jan 12;3(2):9.
16. Quintos D. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* "hierba luisa" sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. [Chiclayo]; 2019. Available from: <https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/7657/Quintos%20Coronado%20Deysi%20Rosa.pdf?sequence=1>
17. Cabrera C. Antimicrobial activity of a system based on a vegetable extract and three essential oils. *Ciencia e Investigación* [Internet]. 2019;22(1):21-6. Available from: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/16811/14298>
18. Anónimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Available from: [http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia\\_III.pdf](http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf)
19. Pavón P, Gogeoascoechea M. Metodología de la Investigación II. Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias de la Salud [Internet]. 2014 [cited 2022 May 16];44. Available from: <http://sapp.uv.mx/univirtual/especialidadesmedicas/mi2/modulo1/docs/Diseñosde...pdf>
20. Otzen T, Manterola C. Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *International Journal of Morphology* [Internet]. 2017;35(1):227-32. Available from: <https://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v35n1/art37.pdf>

21. Pacheco C. Obtención y caracterización del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria recutita* L.) mediante microondas y arrastre con vapor [Internet]. 2021. Available from: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/4624/pacheco-ferrer-claudia-fernanda.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
22. Soto M. Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región amazónica. Universidad Nacional de Trujillo. 2015;6(1):33-43.
23. Díaz V. Metodología de la Investigación Científica y Bioestadística. 2da ed. RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. 564 p.
24. Comité de ética para la investigación científica. Guía Para La Elaboración De Las Consideraciones Éticas En La Investigación Con Seres Humanos/No Humanos. Facultad de salud UIS. 1989;1989:1-2.

## ANEXOS

### Anexo A. Instrumento de recolección de datos

Número de placas	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL	
	60%	80%	100%	Control Negativo Etanol	Control positivo Ciprofloxacino
Placa N°01	11,84	12,76	13,53	6,03	28,40
Placa N°02	10,58	13,07	13,37	6,68	28,63
Placa N°03	12,12	13,75	13,43	5,86	28,48
Placa N°04	11,21	12,56	13,47	6,31	28,34
Placa N°05	11,41	12,34	13,19	6,00	28,60
Placa N°06	10,97	13,00	13,83	6,33	28,00
Placa N°07	11,34	12,63	13,02	5,76	27,62
Placa N°08	11,10	12,44	13,67	6,30	28,71
Placa N°09	11,45	13,31	13,78	5,80	27,80
Placa N°10	11,23	12,20	13,40	5,34	28,47

## Anexo B. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Mostrará efecto antibacteriano el extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>in vitro</i> ?	Demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>in vitro</i>	El extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" presenta efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Cuál será la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" frente a diferentes solventes?	Determinar la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" frente a diferentes solventes.	El extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" es soluble en diferentes solventes
¿Cuáles serán los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" que presentan actividad antibacteriana?	Identificar los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" que presentan actividad antibacteriana	El extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" presentan metabolitos secundarios con actividad antibacteriana
¿Mostrará efecto antibacteriano el extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" al 60%, 80% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>in vitro</i> ?	Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" al 60%, 80% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>in vitro</i> .	El extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" al 60%, 80% y 100% presentan efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>in vitro</i>
¿Mostrará efecto antibacteriano el extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" comparada con Ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>in vitro</i> ?	Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" con Ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>in vitro</i>	El extracto de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa" presenta mayor efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>in vitro</i> que Ciprofloxacino.

### Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ACIONES	DORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
Extracto etanólico de las hojas de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf "hierba luisa"	Producto obtenido del proceso de maceración de la muestra vegetal con etanol	Proceso de maceración con etanol	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 80 60
Efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Acción de disminuir o evitar el crecimiento de las bacterias	Acción de disminuir o evitar el crecimiento de las bacterias	Halo de inhibición			Diámetro	Razón

## Anexo D. Carta de presentación



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

San Juan de Lurigancho 27 de mayo del 2022

**CARTA N°99-2022/ EPFYB-UMA**

Sr.  
**JESÚS ANTONIO BAUTISTA ZAPATA**  
Propietario del Fundo "SAN SALVADOR"  
Ferreñafe - Lambayeque  
Presente. -

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo en nombre propio y de la Universidad María Auxiliadora, a quien represento en mi calidad de Director de la Escuela de Farmacia y Bioquímica.

Sirva la presente para pedir su autorización a que los bachilleres: IPANAQUE RODAS, Nabby Cheyni, DNI 70087176 y MUNDACA CORONEL, Rosa Celina DNI 60969155 puedan recopilar datos para su proyecto de tesis titulado: **"EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE *Cymbopogon citratus* (HIERBA LUISA) FRENTE A *Escherichia coli* ATCC25922, IN VITRO"**.

Sin otro particular, hago propicia la ocasión para expresarle los sentimientos de mi más alta consideración y estima.

Atentamente,

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Jhonne Samanejo Joaquin  
Director de la Escuela Profesional de  
Farmacia y Bioquímica



  
\_\_\_\_\_  
DNI: 77409889

Carr. Beltró 431, San Juan de Lurigancho  
Telf. 389 1212  
www.unsa.edu.pe

## Anexo E. Carta de aceptación del propietario del terreno

Chiclayo, 14 de junio del 2022

### CARTA DE ACEPTACION

Yo Jesús Antonio Bautista Zapata con Dni. N°17409889, acepto que se recolecte la planta de hierba Luisa en mi área de cultivo, ubicado en el departamento de Lambayeque, provincia de Ferreñafe, Distrito de Ferreñafe en Fundo San Salvador; para su proyecto de Investigación de las señoritas, Rosa Celina Mundaca Coronel y Nabby Cheyni Ipanaque Rodas.

  
\_\_\_\_\_  
JESUS ANTONIO BAUTISTA ZAPATA  
DNI.17409889

## Anexo F. Certificado ATCC de la cepa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Escherichia coli <b>Catalog Number:</b> 0335 <b>Lot Number:</b> 335-506** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™* <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2024/3/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Mary L. Bowman <b>Release Date:</b> 2022/4/8
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> 2 colony types, both are gray & beta hemolytic: one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough <b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rod	<b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

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

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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



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



**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**

**Meaning of Score Values**

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

**Meaning of Consistency Categories (A - C)**

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a highconfidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2020-03-27T11:51:17.542 KLH  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-506	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

## Anexo G. Certificación Botánica

Hamilton W. Beltrán S.  
Consultor Botánico  
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María  
hamiltonbeltran@yahoo.com

### CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "HIERBA LUISA" proporcionada por los Bachilleres ROSA CELINA MUNDACA CORONEL y NABBY CHEYNI IPANAQUE RODAS, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Cymbopogon citratus* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino:        Plantae  
División:    Magnoliophyta  
Clase:        Liliopsida  
Subclase:   Commelinidae  
Orden:        Poales  
Familia:     Poaceae  
Género:     *Cymbopogon*  
Especie:    *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 16 Agosto del 2022

  
Bigo. Hamilton Beltrán  
Hamilton W. Beltrán Santiago  
Biólogo - Botánico  
C. N.º 2719

## Anexo H. Base de datos SPSS

estadística g20.sav [ConjuntoDatos1] - IBM SPSS Statistics Editor de datos

Archivo Editar Ver Datos Transformar Analizar Gráficos Utilidades Ampliaciones Ventana Ayuda



	Grupos	Diametro	var	var	var	var	var
1	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,53					
2	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,37					
3	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,43					
4	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,47					
5	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,19					
6	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,83					
7	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,02					
8	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,67					
9	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,78					
10	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 100%	13,40					
11	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	12,76					
12	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	13,07					
13	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	13,75					
14	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	12,56					
15	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	12,34					
16	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	13,00					
17	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	12,63					
18	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	12,44					
19	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	13,31					
20	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 80%	12,20					
21	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 60%	11,84					
22	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 60%	10,58					
23	Ext. etan. "Hierba Luisa" - 60%	12,12					

## Anexo I. Evidencias fotográficas de la investigación

### Figura 2. Recolección de la muestra



08:

### Figura: 3. Preparación de la muestra





**Figura 4. Maceración de la muestra en estudio**



**Figura 5. Filtración del macerado**



**Figura 6. Evaporación del solvente**



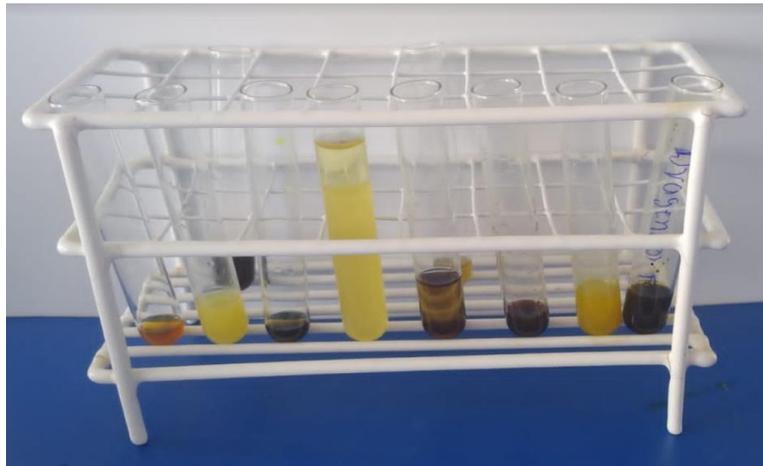
**Figura 7. Preparación de los extractos**



**Figura 8. Estudio de solubilidad**



**Figura 9. Estudio fotoquímico**



**Figura 10. Activación de la cepa**



**Figura 11. Preparación del cultivo bacteriano**



**Figura 12. Sembrado en placa**



**Figura 13. Aplicación del extracto en cultivos de *Escherichia coli***



**Figura 14. Lectura de halos de inhibición**





