



UMA
Universidad
María Auxiliadora

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA RAÍZ DE *Geranium
filipes Killip* (Ajotillo) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus
aureus* ATCC 25923**

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

AUTORES

Bach. HUAMAN PASTOR, JENNY MIRELLY

Código Orcid: 0009-0004-5840-2018

Bach. HUALLPA CONDORI, VERÓNICA

Código Orcid: 0009-0008-1373-179X

ASESOR

Dr. RODRIGUEZ LICHTENHELDT, JOSÉ EDWIN ADALBERTO

Código Orcid: 0000-0003-1876-6496

Lima – Perú

2024

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Verónica, Huallpa Condori, con DNI 73027015 , en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título “**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA RAÍZ DE *Geranium filipes Killip* (Ajotillo) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**”, AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, 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. Indicar que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud ocho 8% 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. Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 13 de febrero del 2025



VERONICA HUALLPA CONDORI

DNI :73027015

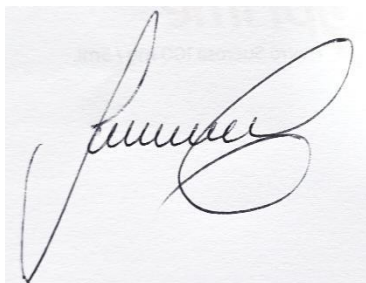


JOSE EDWIN RODRIGUEZ
LICHTENHELDT

DNI :10734121

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

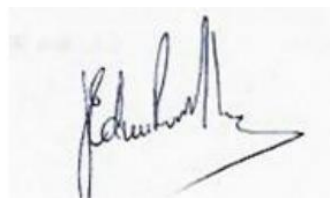
Yo, Jenny Mirelly Huaman Pastor , con DNI , en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título **“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA RAÍZ DE *Geranium filipes Killip* (Ajotillo) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**, AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, 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. Indicar que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud ocho 8% 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. Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.



JENNY MIRELLY HUAMAN
PASTOR

DNI :72497465

Lima, 13 de febrero del 2025



JOSE EDWIN RODRIGUEZ
LICHTENHELDT

DNI :10734121




8% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Fuentes de Internet

Fuentes principales

- 0%  Fuentes de Internet
- 8%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

A mi amado padre, por ser mi modelo a seguir en mi vida profesional, ya que con su ejemplo aprendí a querer y valorar mi carrera. Por su infinito amor, dedicación y su loable labor como padre; por nunca permitirme que me rinda y siempre exhortarme a superarme. Ser maravilloso que desde el cielo me ilumina.

A mi madre por forjarme un corazón noble de valores, por ser ese apoyo constante, por su amor incondicional y perpetuo para conmigo, por ser ese cariño suave que sano los golpes del camino.

A mi hijo, mi amor infinito, quien ha sido mi más grande motivación para no desfallecer en el proceso y de quien deseo ser ejemplo de vida.

Huaman Pastor, Jenny Mirelly

A Dios , porque en cada momento me guío y acompaño.

A mis padres Manuel y Teresa que en cada momento son mi fortaleza y mi sostén , siempre me enseñaron valores para salir adelante, por siempre motivarme a salir adelante y en ningún momento dejarme sola .

A mis hermanitos Yeni , David y Elizabeth , quienes son mi motor y mi motivo incentivándome a ser mejor persona y profesional , en general a toda mi familia, por siempre confiar en mí , motivándome a salir adelante y ser una mejor persona.

A Rober C. quién en los momentos difíciles siempre estuvo allí sosteniendo y acompañando en todo este camino , quién con su amor , su paciencia y su comprensión , nunca me dejó caer .

Huallpa Condori, Verónica

AGRADECIMIENTO

A la Universidad María Auxiliadora, por formarnos con principios y valores.

A nuestro asesor, por contribuir en la realización de nuestro trabajo, brindándonos su orientación.

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
I. INTRODUCCIÓN	13
II. MATERIALES Y MÉTODOS	18
II.1 Enfoque y diseño de la investigación.....	18
II.2 Población, muestra y muestreo	18
II.3 Variables de la investigación.....	20
II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	21
II.5 Plan metodológico para la recolección de datos.....	22
II.6 Procesamiento del análisis estadístico.....	27
II.7 Aspectos éticos.....	27
III. RESULTADOS	28
IV. DISCUSIÓN	32
IV.1 Discusión de resultados.....	32
IV.2 Conclusiones	35
IV.3 Recomendaciones	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

ANEXOS	41
ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos	41
ANEXO B: Matriz de consistencia.....	44
ANEXO C: Operacionalización de las variables.....	46
ANEXO D: Carta de aprobación de la Universidad María Auxiliadora.....	47
ANEXO E: Certificado taxonómico.....	49
ANEXO F: Certificado Microbiológico.....	50
ANEXO G: Evidencias fotográficas	52

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1 Detección cualitativa de los metabolitos secundarios.....	24
Tabla 2 Solubilidad del extracto de raíz <i>Geranium filipes</i> Killip (Ajotillo) frente a solventes orgánicos	28
Tabla 3 Análisis fitoquímico del extracto de la raíz de <i>Geranium filipes</i> Killip (Ajotillo).....	29
Tabla 4 Halos de susceptibilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Geranium filipes</i> Killip (Ajotillo).....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1 Ubicación del distrito de Sicuani, Provincia de Canchis, departamento de Cuzco.....	19
Figura 2 Análisis de variabilidad de Kruskal Wallis y prueba de comparaciones múltiples de Dunn del extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes</i> Killip.....	31

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes Killip* (Ajotillo) frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Materiales y métodos: Es un estudio de diseño experimental y enfoque cuantitativo, cuya muestra estuvo conformada por seis kilos de raíces de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo), proveniente del Cusco, obteniendo un extracto, al cual se le realizó pruebas de solubilidad, análisis fitoquímico y una evaluación antimicrobiana. A los resultados de los realizados se realizó el análisis de variabilidad de Kruskal Wallis y la prueba de Dunn.

Resultado: El extracto hidroalcohólico de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) mostro halos de inhibición promedio de 15.2mm, 18.5mm y 21.5mm para las concentraciones de 40%, 80% y 100% respectivamente, además, para el control positivo (ciprofloxacino) y el control negativo fue de 31mm y 0.0mm respectivamente. También se evidencio que el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es susceptible frente al extracto hidroalcohólico a concentraciones del 80% y 100%.

Conclusión: El extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes Killip* (Ajotillo) presenta efecto antimicrobiano frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, posiblemente por la presencia notable de alcaloides y fenoles.

Palabras claves: Antimicrobiano, *Staphylococcus aureus*, Fitoquímicos.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the in vitro antimicrobial effect of the hydroalcoholic extract of *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) root against *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923.

Materials and methods: It is a study of experimental design and quantitative approach, whose sample consisted of six kilos of roots of *Geranium filipes* Killip (Ajotillo), from Cusco, obtaining an extract, which was tested for solubility, phytochemical analysis and antimicrobial evaluation. The results were subjected to Kruskal Wallis analysis of variability and Dunn's test.

Results: The hydroalcoholic extract of *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) showed mean inhibition halos of 15.2 mm, 18.5 mm and 21.5 mm for concentrations of 40%, 80% and 100% respectively, and for the positive control (ciprofloxacin) and the negative control were 31 mm and 0.0 mm respectively. It was also evidenced that *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 is susceptible to the hydroalcoholic extract at concentrations of 80% and 100%.

Conclusion: The hydroalcoholic extract of *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) root shows antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, possibly due to the notable presence of alkaloids and phenols.

Key words: Antimicrobial, *Staphylococcus aureus*, Phytochemicals

I INTRODUCCIÓN

Si bien es cierto hoy en día existen diversas carreras profesionales enfocadas al área de la salud, es evidente que, pese a sus anudados esfuerzos, aun no se consigue mantener en un 100% la supervivencia del ser humano víctima de una afección de tipo microbiológica, incluso la Organización Mundial de la Salud (ONU) considera que desde el año 2017 únicamente se han aprobado 12 antibióticos, de los cuales 10 de ellos muestran resistencia, ese hecho es muy preocupante, ya que, no permite que la humanidad pueda superar la amenaza de la resistencia antimicrobiana, convirtiéndonos en seres con más vulnerabilidad con forme pasan los días (1). Cabe precisar que nuestra reciente situación respecto a la pandemia por COVID-19, ha sido un verdadero obstáculo para la continuidad del desarrollo de nuevos productos, más aún, considerando que la creación de antibióticos demanda un alto costo, tiempo y bajas tasas de éxito (2).

Datos estadísticos refieren que actualmente la farmacorresistencia está en constante incremento, incluso, ya no se considera que sean episodios propios de países desarrollo, ahora se sabe que es un problema a nivel mundial. La OMS afirma que existe una mortalidad de más de 1000 000 de personas al año y que dicha cifra podría incrementarse a diez millones para el año 2050 (3). Incluso los pacientes con afecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) tiene un 64% más probabilidades de morir en comparación de una bacteria con sensibilidad antibiótica. El Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades (E C D C), refiere que en Europa existen más de 150.000 infecciones por SARM y cerca de 35.000 personas mueren a causas de estas infecciones farmacorresistentes (4). Asimismo, Según la Organización Panamericana de Salud (O P S), considera que las infecciones no atendidas oportunamente representan el 6% de las discapacidades en todos los grupos etarios y en ambos sexos, además,

son los causantes del 7% de mortalidad anual, sin considerar los elevados costos económicos y sociales que esta situación ocasiona a las familias (5).

En el Perú la cepa *Staphylococcus aureus* es portadora en un 30% de las afecciones a la piel, esto sucede cuando la bacteria atraviesa el mecanismo de defensa del huésped infectando tejidos más profundo (6), las causas pueden ser directas por contacto físico, tacto con objetos contaminados o incluso pueden iniciar por la picadura de insectos, todos ellos pueden originar afecciones leves como una foliculitis o llegar a ser complicadas como una osteomielitis, además, se reporta que aproximadamente el 10% de los casos de infecciones de piel y tejidos blandos (SSTI) requieren hospitalización, sin embargo, muchos de ellos llegan a los centros de salud cuando están gravemente complicados, posiblemente a causa del gasto que implica una atención médica inmediata o el bajo conocimiento por parte de la población para detectar signos de alarma como, coloración, dolor, calor, mal olor, incremento del área infectada, entre otros (7).

Por lo mencionado anteriormente el presente estudio se plantea como planteamiento del problema el Mostar si el extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes Killip* (Ajotillo) presenta efecto antimicrobiano *in vitro* frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, por ser un recurso vegetal usado popularmente por la población de la zona, de este modo se podrían continuar realizando investigaciones sobre la fitoterapia, debidamente centradas en conocer las propiedades medicinales que ofrece este vegetal en el tratamiento y mejora de diversas enfermedades.

Efecto antimicrobiano

Se considera efecto antimicrobiano a toda actividad por parte de una sustancia de origen químico o natural que implique la reducción de la multiplicación o muerte de un agente microbiano, dicha acción depende del tipo de agente y sobre todo de las dianas afectadas, pudiendo interferir la síntesis de la pared de la celular, síntesis de proteínas, la síntesis del ácido nucleico o interferir una ruta metabólica (6-8).

Extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes Killip* (Ajotillo)

Es la obtención de una sustancia mediante la aplicación de la técnica de maceración, la cual implica una adecuada selección del recurso, desecado adecuadamente, triturado y macerado en alcohol al 70% durante diez días en un ambiente oscuro y fresco con agitación ocasional, para luego ser filtrado y obtener las concentraciones deseadas, para efecto del presente estudio el extracto deriva de la raíz de *Geranium filipes Killip* (Ajotillo) (9-13).

Stankovic M., Ristivojevic P, et al. (2024) Serbia. entre sus objetivos buscaron determinar la actividad antibacteriana de la especie *vegetal Geranium robertianum* L. Trabajaron con extractos de etanol y acetona, los cuales evidenciaron concentraciones inhibitorias mínimas de 1,25 y 20 mg ml⁻¹ frente a cepas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, mejorando la eficacia del antibiótico de la gentamicina hasta 32 veces. Concluyendo que los extractos de *Geranium robertianum* L. tienen actividad bactericida, otorgándole dicha propiedad sus componentes kaempferol, ácido elágico, quercetina y la rutina (14).

Lukasz Ś., Inga W., et al. (2023) Polonia. Buscaron evaluar el perfil fitoquímico y antibacteriano de extractos de partes aéreas de *Geranium robertianum* L. Obteniendo la presencia de ácidos orgánicos, fenólicos, taninos hidrolizables y flavonoides. Asimismo, se evidenció actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (CMI 16 µg / mL), *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (CMI 125 µg / mL), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (CMI 125 µg / mL), y *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (CMI 125 µg / mL), demostrando poseer efecto antibacteriano (15).

Berrak D., Karatoprak S., et al. (2023) Turquía. Buscaron determinar la actividad antioxidante, composición química y antibacteriana del aceite esencial de geranio *Pelargonium graveolens* L. Obtuvieron que los principales componentes del aceite eran citronelol, geraniol, e isomenthon. Además, se probó efecto sinérgico entre la

Penicilina y el aceite de geranio (GO), obteniendo una MIC de 0,125 g/ml y un diámetro de zona MIC de 11 0,5 valores superiores en comparación con CMI de ciprofloxacino fue de 0,031 g/ml con un valor de zona de $9 \pm 0,5$ mm y se observó una inhibición del radical DPPH del 82,4%, a una concentración de 200 g/mL y del 20,54% en la concentración de 10 g/mL. Concluyendo que el GO tiene propiedad antioxidantes y antibacteriana frente a *Staphylococcus pneumoniae* (16).

Rojas P. (2022) Bogota. buscó evaluar la capacidad antimicrobiana del extracto de *Pelargonium graveolens* (generaceae), mediante el método de placas y pozos frente a *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Bacillus subtilis*. Los resultados fueron favorables respecto a la actividad antimicrobiana puesto que presentó mayor porcentaje de inhibición frente a *Staphylococcus aureus*, con un halo de inhibición de 10 mm al 10%, 12 mm al 30% y 17.5 mm al 50% (17).

Villacrés J., Ríos N., Dávila R. (2020) Iquitos. buscaron evaluar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Geranium ayavacense* (EAG) procedente de Huaraz a concentraciones de 700, 800 y 900 mg/mL, obteniendo que frente a *Escherichia coli* presento halos de inhibición de 13.00, 12.67 y 13.33mm. Para *Enterococcus faecalis* halos de inhibición de 14.00, 14.33 y 15.00 mm y para *Staphylococcus aureus* obtuvo valores de 18.33, 18.33 y 19.mm respectivamente. Demostrando que el Extracto acuoso de *Geranium ayavacense* posee elevados porcentajes de actividad antibacteriana (18).

Camino X. (2021) Trujillo. Busco el efecto antibacteriano del extracto etanólico del geranium de *Pelargonium peltatum* (L.) a concentraciones de 5, 25, 50, 75 y 100% frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Obteniendo halos de inhibición de 9.20mm, 10.70mm, 11.85mm, 12.40mm y 13.90mm respectivamente. Demostrando que el extracto del geranium de *Pelargonium peltatum* (L.) tiene actividad antibacteriana (19).

Zuta N. (2019) Lima. buscó evaluar el efecto antibacteriano, antioxidante y la presencia de los principales metabolitos del extracto alcohólico del Geranio de *Pelargonium hortorum* frente a *Staphylococcus aureus*. Obtuvieron que existe dominante cantidad de antocianinas, flavonoides, cardenolidos, taninos y fenoles. Además presentó un diámetro de inhibición de 20mm y una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 250µg/mL. Finalmente reaccionó con el radical DPPH, presentando mejor actividad antioxidante al compararlo con la vitamina C. Demostrando que el extracto alcohólico del Geranio de *Pelargonium hortorum* posee efecto antibacteriano y antioxidante (20).

Por lo antes mencionado el presente estudio cuenta con una justificación teórica, debido a que los resultados obtenidos aportan conocimiento científico, validando la actividad antimicrobiana de la raíz de *Geranium filipes Killip (Ajotillo)* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, siendo de utilidad como antecedente para futuros investigadores. Asimismo, tiene una justificación práctica, ya que, en la actualidad las infecciones causadas por *S. aureus* representan un gran problema de salud pública, especialmente con las cepas resistentes, siendo importante realizar la búsqueda de alternativas de tratamientos que puedan servir como base para la formulación de productos naturales que contribuyan en la reducción de estos casos de infección. Además cuenta con una justificación social, ya que, al demostrar el potencial antimicrobiano del Ajotillo, se brinda reconocimiento y valor al conocimiento ancestral de la población local de Sicuani. Finalmente presenta una justificación metodológica por que se generó conocimiento sobre las concentraciones efectivas del presente extracto natural contra *S. aureus* mediante el uso de métodos estandarizados.

El estudio busca evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* el extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes Killip (Ajotillo)* frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Asimismo, como hipótesis se plantea que el extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes Killip (Ajotillo)* presenta efecto antimicrobiano frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 Enfoque y diseño de la investigación

Esta investigación presenta un enfoque cuantitativo, debido a que, recopila y analiza los datos para probar la hipótesis planteada basada en mediciones numéricas y análisis estadístico de los resultados (21,22).

El diseño de investigación es de carácter experimental, debido a que, se manipuló la concentración del extracto hidroalcohólico de *Geranium filipes Killip (Ajotillo)* con el fin de demostrar una clara relación de causa y efecto entre la variable (23).

Este estudio en particular se clasifica como un estudio prospectivo, ya que, implicó definir un punto de partida y realizar un seguimiento durante un período de tiempo para recopilar datos (23).

Asimismo, se categoriza como transversal debido a su naturaleza fue limitada en el tiempo y la restricción de la medición fue en un solo momento (23).

II.2 Población, muestra y muestreo

II.2.1 Población

La población estuvo constituida por 10 kg las raíces de la especie *Geranium filipes Killip*, comúnmente conocida como Ajotillo, fueron obtenidas del distrito de Sicuani situado en la provincia de Canchis del departamento del Cusco. El recurso crece a una altitud de 3550 msn m.

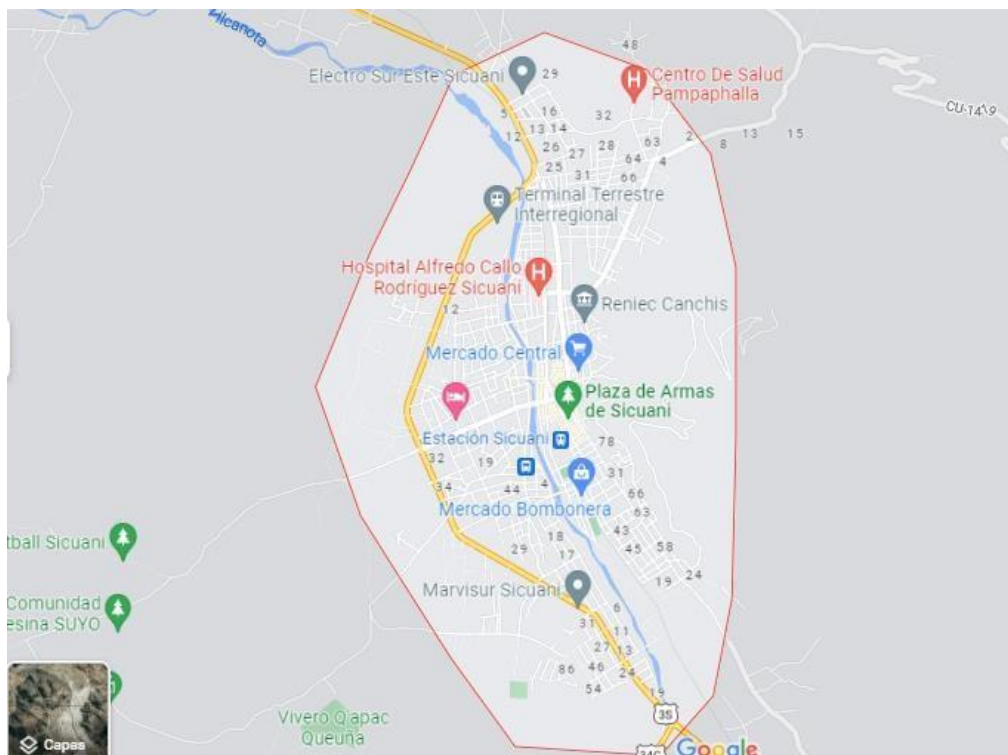


Figura 1. Ubicación del distrito de Sicuani, Provincia de Canchis, departamento de Cuzco.

Fuente: <https://www.google.com/maps/place/Sicuani>

II.2.2 La muestra

La muestra estuvo compuesta por 6 kg de raíces de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo).

Criterios de Inclusión de la muestra:

- Raíces de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) que se encontraron libres de contaminación o plagas.
- Raíces de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) que procedieron de la localidad de Sicuani, Cusco.

Criterios de exclusión de la muestra:

- Raíces de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) que presentaban defectos por envejecimiento.

El tipo de muestreo utilizado fue no probabilístico, debido a la selección intencional y conveniente de las raíces de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión mencionados anteriormente.

II.3 Variables de investigación

II.3.1 Variable independiente

Extracto hidroalcohólico de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo).

Definición Conceptual: solución obtenida de recursos vegetales mediante maceración al ser sumergido en una solución de alcohol por diez días, siendo secado en una estufa a 40°C, obteniendo finalmente la concentración deseada (10-13).

Definición operacional: es la solución derivada del extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo), la cual fue inicialmente seleccionada, desecada, pulverizada y macerada en alcohol al 70% pasada finalmente por un rotavapor hasta obtener las diferentes concentraciones.

II.3.2 Variable dependiente

Efecto antimicrobiano

Definición conceptual: Es la acción que implica la restricción (parcial o total) del crecimiento de microorganismos frente a una sustancia química o proveniente de algún recurso natural (6-8)

Definición operacional: Es la acción que implica la restricción (parcial o total) del crecimiento de microorganismos, como la bacteria *Staphylococcus aureus*, frente al extracto hidroalcohólico de *Geranium filipes* Killip a través del método Kirby Bauer, donde dependiendo del tamaño del halo de inhibición producido permite determinar su eficacia.

II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

II.4.1 Técnica

La recopilación de datos se realizó mediante la aplicación del método de difusión de Kirby Bauer, técnica que permite la evaluación de la eficacia antimicrobiana de una sustancia mediante la medición del área de inhibición formada en las placas Petri (24).

II.4.2 Instrumento

Para lograr precisión en la medición, fue necesario utilizar los siguientes instrumentos de recopilación de datos (24):

- Ficha de solubilidad del extracto de raíz *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) frente a solventes orgánicos como Cloroformo, etanol, metanol, agua destilada y N-Hexano, enfocado principalmente en la determinación del grado de solubilidad del extracto a través de la observación visual.
- Ficha del análisis fitoquímico del extracto de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo), con el propósito de recopilar los hallazgos cualitativos con respecto a la presencia de los principales metabolitos secundarios contenidos en el extracto, haciendo uso de reactivos químicos, el cual al ser positivo evidencia un cambio notable en la coloración o la precipitación, caso contrario, se interpreta como resultado negativo.
- Ficha de halos de susceptibilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) el cual consistió en registrar el diámetro del halo de inhibición (en milímetros) de las cinco repeticiones de cada concentración del extracto hidroalcohólico, así como también, los valores obtenidos en el control negativo y positivo (ciprofloxacina de 5 ug), para finalmente sacar el promedio y realizar las comparaciones respectivas.

II.5 Plan metodológico para la recolección de datos

Siguiendo una secuencia de pasos, el estudio se llevó a cabo de manera efectiva:

II.5.1 Obtención y Selección de la muestra

Se adquirió 10 kg. de la especie vegetal *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) durante el mes de marzo en el Distrito de Sicuani de la provincia del Cusco, a una altitud de 3550 msnm. Este recurso (planta completa) se recolectó cuidadosamente, para luego seleccionar las raíces que reunían los criterios de inclusión y exclusión antes mencionados.

I.1.1 Identificación taxonómica de la Muestra

Una muestra completa del recurso vegetal en estudio (parte aérea y raíz) fue transportada a la Universidad Nacional de San Agustín al *Herbarium Arequipense* (HUSA) en Arequipa, donde el Mg. Leoncio Mariño Herrera, otorgo la constancia N° 13-2024-HUSA detallando la descripción taxonómica de mismo.

I.1.2 Obtención del extracto hidroalcohólico

En el Laboratorio de Control de Calidad de la Empresa de Industrias Médicas y Farmacéuticas S.R.L. se procedió a lavar las raíces seleccionadas con agua destilada, luego se deshidrataron durante 5 días a temperatura ambiente, fuera de la exposición directa de la luz solar, en un ambiente con apropiada circulación de aire, una vez secas se procedió a colocarlos en un molino eléctrico hasta obtener 400gr del producto, el cual se colocó en un frasco ámbar agregándose el alcohol al 70% p/v de 800 mL dejándolo en reposo por diez días, periodo en el cual el frasco

será agitado con movimientos circulares cada 12 horas durante un tiempo aproximado de diez minutos.

Al onceavo día, se procedió a realizar el filtrado, haciendo uso del papel filtro Whatman, la sustancia obtenida se transfirió a un vaso de precipitados de vidrio (capacidad de volumen de 500 ml) y fue llevado a un rotavapor, a una temperatura constante de 40°C. El producto obtenido se almacenó en un frasco color ámbar en refrigeración.

I.1.3 Prueba de solubilidad:

El extracto de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) fue expuesto a la prueba de solubilidad, el cual implicó el uso de 5 solventes: Cloroformo, etanol, metanol, agua destilada y N-Hexano, Luego en un tubo de ensayo (previamente esterilizado y rotulado) se añadió 1 ml de la muestra junto con 1 ml de un disolvente, para finalmente observar visualmente la solubilidad

I.1.4 Marcha Fitoquímica

Diversas fuentes validan el enfoque planteado por de Olga Lock, sobre la detección cualitativa de los metabolitos secundarios de un extracto hidroalcohólico, la cual es visible a través de reacciones químicas, que implican cambios en el tono o la precipitación. Para ello se emplearon las técnicas químicas detalladas en la siguiente tabla:

Tabla N° 1: Detección cualitativa de los metabolitos secundarios

Constituyente	Ensayo	Preparado en Tubo de ensayo	Reacción positiva
Alcaloides	Reacción de Dragendorff	10 gotas de muestra luego introducir 5 gotas de ácido clorhídrico al 10%, seguido de 3 gotas de Dragendorff.	Precipitado naranja
Fenoles	Reacción de Tricloruro Férrico	Combinar 10 gotas de la muestra con 3 gotas de tricloruro férrico.	Coloración azul verdoso o púrpura
Flavonoides	Reacción con Shinoda	Colocar 1mL de la muestra, agregar limaduras de magnesio y 3 gotas de HCl concentrado.	Coloración rosa o roja
Taninos	Reacción Gelatina	Combinas 10 gotas de la muestra con tres gotas de Gelatina.	Precipitado denso y blanco.

Fuente: Elaboración propia basado en información procedentes de Baez A y Humpire R. 2022 (25)

I.1.5 Actividad antimicrobiana:

El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo), se sometió a una evaluación de sus propiedades antimicrobianas mediante el método de difusión en agar con discos de Kirby Bauer, cuyo propósito fue determinar la eficacia antibacteriana del extracto frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC25923,

donde cada concentración fue probada por quintuplicado con la finalidad de asegurar la confiabilidad de la prueba.

Para reactivar la variedad *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se mantuvieron las precauciones necesarias de bioseguridad, ya que, se debió cultivar en agar Mueller Hinton a 35°C por un tiempo no superior a las 8 horas ciñéndonos a lo descrito por el fabricante en la hoja de datos técnicos. Una vez reactivada, la cepa fue colocada en las placas de agar con manitol y sal, medio diseñado específicamente para *Staphylococcus aureus*. Cabe mencionar que los medios de cultivo fueron previamente sometidos a un proceso de esterilización colocándolos en un autoclave a 121°C por 15min, al termino, fueron transferidos a placas de Petri hasta su posterior empleo.

Se continuó con la elaborar Caldo Peptonado, donde se tomó 15 gramos del polvo y se disolvió en un litro de agua purificada, calentándola hasta llegar al punto de ebullición durante un minuto. Luego el caldo se repartió en recipientes apropiados.

El Agar de Mueller Hinton se preparó colocando 37gr del polvo mezclándolo con 1 litro de agua purificada, se remojo durante 10 a 15 minutos, luego se calentó la mezcla con agitación frecuente hasta que hirvió durante 1 minuto hasta su total disolución. Se esterilizó la mezcla a 121°C durante 15min, después se dejó que se enfríe a 45°C. El producto se colocó en las placas Petri y para lograr una capa de 4mm de espesor fue necesario estar sobre una superficie plana.

El Agar Manitol Salado se preparó mezclando 111gr del polvo en 1 litro de agua durante cinco minutos, repitiendo el procedimiento anterior, se calentó la mezcla con agitación frecuente hasta que hirvió durante 1 minuto hasta su total disolución. Se distribuyó la mezcla en recipientes esterilizados previamente en autoclave a 121°C durante 15min, dejando que se enfríe antes de distribuirlo en placas de Petri.

El inóculo se preparó transfiriendo suavemente cada colonia de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a un tubo de ensayo que contenía 5 ml de caldo peptonado,

luego se calibró la turbidez al estándar de McFarland, la suspensión preparada contenía de 1 a 2 x 10⁸ CFU/mL, todo el proceso se llevó a cabo en un ambiente iluminado, donde los tubos se encuentren contra un fondo blanco con líneas negras. Para la inoculación de la cepa fue fundamental utilizar placas de agar Mueller Hinton, siendo necesario distribuir uniformemente el mismo por toda la superficie del medio, usando un hisopo, sembrando en tres direcciones, después de plantar, se dejó que el medio se seque durante 15 minutos con la placa de Petri sellada. Luego se colocó los discos en la superficie de agar utilizando unas pinzas estériles, presionándolo ligeramente garantizando un contacto uniforme.

Finalmente para la elaboración de discos de sensibilidad se utilizó de un punzón regular para fabricar discos de papel Whatman con una medida de 6mm de diámetro, luego fueron sometidos a esterilización a 121°C por 30mm. Cada disco estuvo impregnado con el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) en sus diferentes concentraciones para luego ser colocados en el exterior del medio ya inoculados con la cepa correspondiente, clasificándolos de la siguiente manera:

- Grupo I: Discos con solvente elegido.
- Grupo II: Discos con 100% de extracto.
- Grupo III: Discos con 80% de extracto.
- Grupo IV: Discos con 40% de extracto.
- Grupo V: Discos con 20% de extracto.
- Grupo VI: Discos con Ciprofloxacino 5ug.

Se prepararon treinta placas de Petri con agar Mueller Hinton, luego fueron incubadas a 37°C por 24 horas y finalmente se midieron los halos de inhibición mediante una regla en milímetros.

I.2 Procesamiento del análisis estadístico

Para evaluar los resultados del efecto antimicrobiana del extracto, se empleó inicialmente el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), luego se realizó el análisis de varianza aplicando la prueba de Shapiro Wilk al no estar ajustado a una distribución normal, se procedió a aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis y Dunn, esta última es una prueba de comparaciones múltiples.

I.3 Aspectos éticos

Durante el curso de la investigación, se emplearon las prácticas éticas establecidas según las normas de bioseguridad, lo cual incluyen uso de vestimenta adecuada, desecho adecuado de muestras microbiológicas y el monitoreo continuo del ambiente interno y externo de los entornos experimentales. Además, en todo momento se estuvo 100% comprometido con los criterios bioéticos tanto para la especie vegetal en estudio y su relación con la especie humana y no humana, prevaleciendo la armonía y equilibrio del ecosistema (26).

II RESULTADOS

Tabla 2. Solubilidad del extracto de raíz *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) frente a solventes orgánicos

Solventes	Resultados
Cloroformo	-
Etanol	+++
Metanol	+++
Agua destilada	+++
N-Hexano	-
Donde: No soluble (-), Poco soluble (+), Moderadamente soluble (++) , Completamente soluble (+++)	

Fuente: Propia.

En la Tabla 2 se aprecia la solubilidad del extracto de raíz *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) donde muestra que es completamente soluble (+++) frente al etanol, metanol y agua destilada, Asimismo, es no soluble (-) frente a Cloroformo y N-Hexano.

Tabla 3. Análisis fitoquímico del extracto de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo)

Constituyentes químicos	Ensayo	Reacción
Alcaloides	Reacción de Dragendorff	+++
Fenoles	Reacción de Tricloruro Férrico	+++
Flavonoides	Reacción con Shinoda	-
Taninos	Reacción Gelatina	-
Donde: (+++) Evidencia notable, (++) Evidencia moderada, (+) Poco evidente, (-) No hubo evidencia.		

Fuente: Propia.

En la Tabla 3, se observa que los metabolitos secundarios de evidencia notable (+++) fueron alcaloides y fenoles, y no hubo evidencia (-) de Flavonoides y taninos.

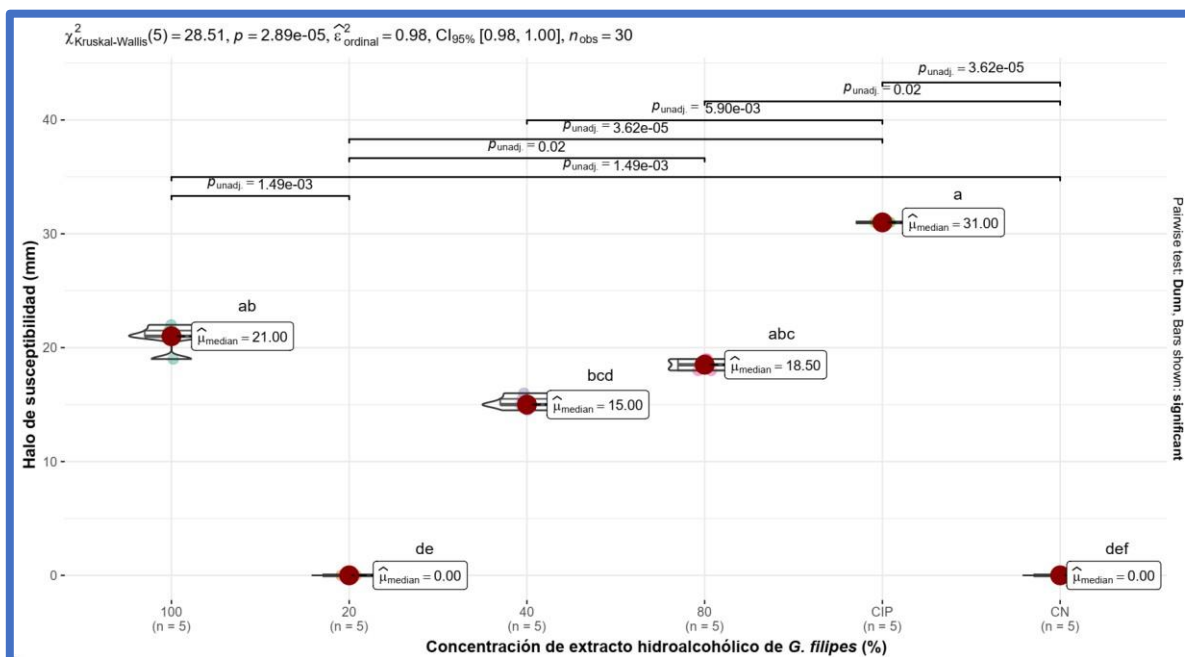
Tabla 4. Halos de susceptibilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo)

Cepa Bacteriana	N°	Extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Geranium filipes</i> Killip					
		CN	EHG 20 %	EHG 40 %	EHG 80 %	EHG 100 %	CIP
		Halos de susceptibilidad (mm)					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1	0,0	0,0	15,5	18,0	21,0	31,0
	2	0,0	0,0	15,0	19,0	22,0	31,0
	3	0,0	0,0	16,0	18,5	21,5	31,0
	4	0,0	0,0	14,5	19,0	19,0	31,0
	5	0,0	0,0	15,0	18,0	21,0	31,0
	PROMEDIO	0,0	0,0	15,2	18,5	21,5	31,0

Donde:
 Control negativo (CN)
 Extracto Hidroalcohólico de *Geranium filipes* Killip (EHG)
 Ciprofloxacino (CIP)

Fuente: Propia.

En la Tabla 4, se observa el efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mostrando diámetros de halos de inhibición promedio en las concentraciones de 20% (0.0mm), 40% (15.2mm), 80% (18.5mm) y 100% (21.5mm), además, para el ciprofloxacino (31mm) y el control negativo (0.0mm).



Nota: Control Negativo=CN, Ciprofloxacino=CIP, estimador de la mediana= $\hat{\mu}_{\text{median}}$, número de unidades experimentales= n , estadístico de Kruskal Wallis= $\chi^2_{\text{Kruskal Wallis}}$, rango épsilon al cuadrado= $\hat{\epsilon}^2_{\text{ordinal}}$, Porcentaje=%, Intervalo de Confianza al 95%=CI95%, el efecto significativo del tratamiento mediante la prueba de comparaciones múltiples de Dunn= a,b...n letras de significancia que en orden alfabético señala.

Figura 2. Análisis de variabilidad de Kruskal Wallis y prueba de comparaciones múltiples de Dunn del extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes* Killip.

Fuente: R version 4.3.1 (2023-06-16 ucrt) -- " Beagle Scouts " Copyright (C) 2023 The R Foundation for Statistical Computing Platform: x86_64-w64-mingw32/x64 (64-bit)

En la Figura 2. se evidencia diferencia estadísticamente significativa entre las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes* Killip frente a *S. aureus*, la prueba de Kruskal Wallis obtuvo ($\chi^2_{\text{Kruskal Wallis}} = 28.51$; $p = 2.89 \times 10^{-5}$), la cual fue previa verificación de supuestos, donde el 98% ($\hat{\epsilon}^2_{\text{ordinal}} = 0.98$, IC₉₅ 0.98-1.00) del efecto del tratamiento expone la inhibición de crecimiento bacteriano. concluyendo, a través de la prueba de Dunn que existe efecto antimicrobiano significativo del Ciprofloxacino, seguido de las concentraciones 100% y 80% de extracto en estudio, en la inhibición del *S. aureus*.

III DISCUSIÓN

III.1 Discusión de resultados

Considerando que en países latinoamericanos como el Perú, existen zonas con dificultad de acceso a centros de salud o establecimientos que provean medicamentos, así como también, pobladores con bajo nivel de conocimiento y bajo nivel económico, traen como resultado que al contraer una enfermedad prioricen el tratarse empíricamente o en su defecto no dar la importancia requerida a su salud, esta situación conlleva a complicaciones como discapacidades duraderas o permanentes hasta incluso la muerte del paciente, siendo este el motivo de investigar las propiedades del recurso vegetal *Geranium filipes* Killip, con la finalidad de aportar conocimiento científico validado.

El presente estudio demostró mediante la marcha fitoquímica que el extracto de raíz *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) presenta metabolitos secundarios con evidencia notable de alcaloides y fenoles, además, no hubo evidencia de flavonoides, taninos. Dichos valores tienen similitud con el estudio de **Zuta N.** (20) quien obtuvo que el extracto alcohólico del Geranio de *Pelargonium hortorum* tiene elevada cantidad de antocianinas, flavonoides, cardenolidos, taninos y fenoles. A diferencia del estudio de **Stankovic M., Ristivojevic P, et al.** (14) Quienes demostraron que el extracto de *Geranium robertianum* L. presenta como componentes primordiales el kaempferol, ácido elágico, quercetina y la rutina considerando que son los que le otorgan la actividad bactericida. De igual modo el estudio de **Lukasz Ś., Inga W., et al.** (15) Determinaron mediante el perfil fitoquímico que el extracto de partes aéreas de *Geranium robertianum* L. predominan los metabolitos ácidos orgánicos, fenólicos, taninos hidrolizables y flavonoides, siendo estos los responsables de su actividad antibacteriana. Igualmente, el estudio de **Berrak D., Karatoprak S., et al.** (16) Demostraron que los principales componentes del aceite esencial de geranio *Pelargonium graveolens* L. son el citronelol, geraniol, e isomenthon. Es probable que esta diferencia sea a causa de que pese a que la mayoría de los estudios

corresponde a recursos vegetales que pertenecen a la familia *Geranium*, sin embargo en su mayoría provienen de diversos países, los cuales presenta diferencia a nivel climatológico y de suelo pudiendo causar alteraciones en los componente del recurso vegetal.

Asimismo, se obtuvo que el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) tiene efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mostrando diámetros de halos de inhibición promedio en las concentraciones de 40% con 15.2mm, al 80% con 18.5mm y al 100% con 21.5mm, además, para el ciprofloxacino fue de 31mm y para el control negativo fue 0.0mm. Sin embargo, no presento actividad a la concentración del 20%, además, la prueba de Dunn determino que la cepa *S. aureus* es sensible al Ciprofloxacino, seguido de las concentraciones 100% y 80% de extracto en estudio. Dichos resultados son similares al de **Villacrés J., Ríos N., Dávila R.** (18) obteniendo que el extracto acuoso de *Geranium ayavacense* a concentraciones de 700, 800 y 900 mg/mL presento halos de inhibición de 18.33, 18.33 y 19.00mm respectivamente frente a *Staphylococcus aureus* demostrando que presenta actividad antibacteriana. Igualmente, con el estudio de **Camino X.** (19) quien determino el efecto antibacteriano del extracto etanólico del geranium de *Pelargonium peltatum* L. a concentraciones de 5, 25, 50, 75 y 100% frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, obteniendo halos de inhibición de 9.20mm, 10.70mm, 11.85mm, 12.40mm y 13.90mm respectivamente. Además, con el estudio de **Stankovic M., Ristivojevic P, et al.** (14) Quienes demostraron la actividad antibacteriana de los extractos de etanol y acetona de la especie vegetal *Geranium robertianum* L. obteniendo concentraciones inhibitorias mínimas de 1,25 y 20 mg ml⁻¹ frente a la cepa *Staphylococcus aureus*. Del mismo modo el estudio de **Lukasz Ś., Inga W., et al.** (15) Quienes determinaron la actividad antibacteriana del extracto de *Geranium robertianum* L. frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, obteniendo una CMI 125 µg/mL. Del mismo modo el trabajo de **Berrak D., Karatoprak S., et al.** (16) Demostrando que el aceite esencial de geranio *Pelargonium graveolens* L presenta

mayor la actividad antibacteriana que el control positivo (ciprofloxacino) obteniendo una MIC de 0,125 g/ml y un diámetro de zona MIC de 11 0,5 mm. Asimismo, **Rojas S.** (17) determina la capacidad antimicrobiana del extracto de *Pelargonium graveolens* (generaceae) mostrando halos de inhibición de 10 mm, 12 mm y 17.5 mm frente a *Staphylococcus aureus*. La similitudes evidenciadas, posiblemente corresponda al hecho de que pese a compararse con recursos vegetales de la familia *Geranium*; los cuales tienen variada presencia de metabolitos secundarios, estos al igual que el recurso *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) le otorgan propiedades antibacterianas.

III.2 Conclusiones

- Los resultados obtenidos evidenciaron que los principales metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) fueron alcaloides y fenoles.
- Las concentraciones del extracto hidroalcohólico de raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) que presentaron mayor actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fueron al 100 y 80%, demostrando que mientras mayor sea la concentración del extracto mayor será la actividad antimicrobiana.
- La cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es susceptible frente al extracto hidroalcohólico de raíz *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) en sus concentraciones de 40, 80 y 100% obteniendo valores de inhibición de 15.2mm, 18.5mm y 21.5mm respectivamente, sin embargo, únicamente la de mayor concentración guarda similitud en comparación con el antibiótico ciprofloxacino.
- Se proporcionan evidencia sólida de que el extracto hidroalcohólico de raíz *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) tiene efecto antimicrobiano frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, siendo un hallazgo importante, que respalda el uso potencial del recurso vegetal contra infecciones bacterianas justificando su exploración como fuente de compuestos terapéuticos.

III.3 Recomendaciones

- Es importante motivar a los diversos profesionales de la salud, a investigar de manera integral el recursos vegetal *Geranium filipes* Killip (Ajotillo), con la finalidad de hacer que se conozcan sus propiedades.
- Se recomiendan incluir en los estudios técnicas analíticas específicas como cromatografía de alto rendimiento y espectrometría de masas, con la finalidad de identificar y caracterizar los compuestos, de esta manera se podrá tener mayores alcances sobre mecanismo de acción de la actividad antimicrobiana observada.
- Al no existir muchas evidencias científicas del *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) procedente de la ciudad de Cusco, se sugiere realizar estudios de toxicidad para evaluar la seguridad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. “La OMS alerta de que el desarrollo de nuevos antibióticos está estancado”. Noticia ONU. 2024 <https://news.un.org/es/story/2022/06/1510742>
2. Organización Panamericana de Salud. “El impacto de la COVID-19 en la resistencia antimicrobiana” 2024. <https://www.paho.org/es/noticias/17-11-2021-impacto-covid-19-resistencia-antimicrobiana>
3. Oceane D. Científicos descubren los primeros antibióticos nuevos en más de 60 años gracias a la IA. Revista Euronews. 2023.
4. Botello L. “Nuevos antibióticos: tres buenas noticias en la guerra contra las superbacterias”. Article The Conversation 2024. <https://theconversation.com/nuevos-antibioticos-tres-buenas-noticias-en-la-guerra-contra-las-superbacterias-231833>
5. Organización Panamericana de Salud. “Enfermedades transmisibles” 2024. <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-transmisibles>
6. Cabrera Z. “Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Dracontium lorentense* y *Uncaria tomentosa* en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina” Universidad César Vallejo. Trujillo, Perú 2020.
7. Bravo S. Principales factores de riesgo y prevalencia de celulitis en el servicio de medicina del Hospital de Ventanilla, periodo enero - diciembre 2016. Universidad Ricardo Palma. Lima Perú 2019.
8. Requejo M. y Callao J. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Datura stramonium* (chamico) y *allium sativum* (ajo) sobre *Staphylococcus aureus*. Universidad María Auxiliadora. Lima, Perú 2021.
9. Sanchez E. “Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* Humb. &Bonpl. Cuatrec. (wila wila) frente a cepas de *staphylococcus aureus* y *escherichia coli*” Universidad María Auxiliadora. Lima, Perú 2022.

10. Uriol D. y Espinoza M. "Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de frutos de Aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) y de hojas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) frente a *Staphylococcus aureus*" Revista Scielo. Perú 2021.
11. Carrillo C., Díaz R., Guerra K. y Román A. "Actividad Antimicrobiana de Extractos Hidroalcohólicos de Hojas de Dos Variedades de *Mangifera indica* L." Revista Ciencia Universidad El Milagro (UNEMI) Ecuador 2020.
12. Coarita N. y Mayta H. "Efecto antibacteriano del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Senecio candollei* Wedd. (Janqo janqo) sobre *Staphylococcus aureus*" Universidad Inca Garcilazo de la Vega. Lima, Perú 2022.
13. Tarqui S. "Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas *passiflora tripartita* frente a cepas *staphylococcus aureus* ATCC" Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú 2021.
14. Stankovic M. Ristivojevic P, et al. "A comprehensive study on *Geranium robertianum* L. antibacterial potential". Article Navigation Journal Article. Universidad de Kragujevac, Kragujevac, Serbia 2024. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae106>
15. Lukasz Ś., Inga W., et al. "Herb Robert's Gift against Human Diseases: Anticancer and Antimicrobial Activity of *Geranium robertianum* L." Medical University of Lublin, Polonia 2023. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37242803/>
16. Berrak D., Karatoprak S., et al. "Antioxidant Activity and Chemical Composition of *Geranium* Oil and Its Synergistic Potential against *Pneumococci* with Various Antibiotic Combinations" University İstanbul-Cerrahpaşa, İstanbul. Turquía 2023. DOI: 10.3390/plantas12173080
17. Rojas P. "Evaluation of the antimicrobial capacity of *Pelargonium graveolens* extracts using the plate and well method" Pontificia Universidad Javeriana. Bogota 2022. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repository.javeriana.](chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repository.javeriana)

edu.co/bitstream/handle/10554/62283/attachment_attachment_0_Tesis-Paula-Sofi%CC%81a-Rojas.pdf?sequence=1

18. Villacrés J., Ríos N., Dávila R. "Actividad antibacteriana in vitro de *Geranium ayavacense* sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*". Revista Peruana de Medicina Integrativa. Universidad de la Amazonia Peruana. Iquitos Perú 2020.
19. Camino X. "Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *Pelargonium peltatum* (L.) LHér. frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212". Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo, Perú. 2021. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12759/8655/REP_XIOMARA.CAMINO_EFECTO.ANTIBACTERIANO.IN.VITRO.pdf;jsessionid=424E50E8AF0ACE7ED9E40FE282D66AE8?sequence=1
20. Zuta N. "Efectividad antioxidante, antibacteriana y moduladora del extracto alcohólico de hojas de *Pelargonium hortorum* Geranio frente a *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple" Universidad Nacional del Callao. Lima, Perú 2019. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/3991/ZUTA%20ARRIOLA_DOCTORADO_2019r.pdf?sequence=4&isAllowed=y
21. Arispe M., Yangali J., Guerrero M., Rivera O., et al. "La Investigación Científica: Una Aproximación para Estudios de Posgrado" Universidad Uld. Guayaquil, Ecuador 2020.
22. Tapia M., Tapia A., Acevedo S. y Tito L. "Un enfoque cuantitativo de la investigación" Editor: Universidad Nacional de Huancavelica. Huancayo, Perú 2020
23. Romero H., Real J., Ordoñez J., et al. Metodología de la investigación. Edicumbre Editorial Corporativa. Mexico 2021.

https://acvenisproh.com/libros/index.php/Libros_categoria_Academico/articulo/view/22/29

24. Medina M., Rojas R., Bustamante W., et al. Metodología de la investigación: Técnicas e instrumentos de investigación. Puno, Perú 2023. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://editorial.inudi.edu.pe/index.php/editorialinudi/catalog/download/90/133/157?inline=1
25. Baez A y Humpire R. “Propiedades antimicrobianas del aceite esencial de *Theobroma grandiflorum*, también conocido como COpoazu, contra las bacterias patógenas *S. pyogenes* y *S. aureus*. Universidad María Auxiliadora. Lima, Perú 2022.
26. World Health Organization. Manual de bioseguridad de laboratorio. Cuarta edición. 2020 chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.minsa.gob.pe/Recursos/OTRANS/08Proyectos/2022/Manual%20de%20Bioseguridad%20OMS.pdf

ANEXOS

ANEXO A: Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Ficha 1. Solubilidad del extracto de raíz *Geranium filipes* Killip (Ajotillo) frente a solventes orgánicos

Solventes	Resultados
Cloroformo	
Etanol	
Metanol	
Agua destilada	
N-Hexano	
Donde: No soluble (-), Poco soluble (+), Moderadamente soluble (++) Completamente soluble (+++)	

Fuente: Propia.

Ficha 2. Análisis fitoquímico del extracto de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo)

Constituyentes químicos	Ensayo	Reacción
Alcaloides	Reacción de Dragendorff	
Fenoles	Reacción de Tricloruro Férrico	
Flavonoides	Reacción con Shinoda	
Taninos	Reacción Gelatina	
Donde: (+++) Evidencia notable, (++) Evidencia moderada, (+) Poco evidente, (-) No hubo evidencia.		

Fuente: Propia.

Ficha 3. Halos de susceptibilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Geranium filipes* Killip (Ajotillo)

Cepa Bacteriana	N°	Extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Geranium filipes</i> Killip					
		CN	EHG 20 %	EHG 40 %	EHG 80 %	EHG 100 %	CIP
		Halos de susceptibilidad (mm)					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	PROMEDIO						

Donde:
Control negativo (CN)
Extracto Hidroalcohólico de *Geranium filipes* Killip (EHG)
Ciprofloxacino (CIP)

Fuente: Propia.

ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Mostrará efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes Killip (Ajotillo)</i> frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Evaluar el efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes Killip (Ajotillo)</i> frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	El extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes Killip (Ajotillo)</i> presenta efecto antimicrobiano frente a la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Qué metabolitos secundarios estarán presentes en el extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes Killip (Ajotillo)</i> ?	Identificar los principales metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes Killip (Ajotillo)</i> .	Los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes Killip (Ajotillo)</i> son flavonoides y taninos.
¿Cuál de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes Killip (Ajotillo)</i>	Determinar que concentraciones del extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes Killip (Ajotillo)</i>	El extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes Killip (Ajotillo)</i> a mayor concentración presenta mayor actividad

<p>presentará mayor efecto antimicrobiano frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?</p>	<p>presenta mayor actividad antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p>	<p>antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p>
<p>¿Cuál es la susceptibilidad de la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 frente al extracto hidroalcohólico de raíz <i>Geranium filipes</i> Killip (Ajotillo); a diversas concentraciones, en comparación con el antibiótico ciprofloxacino?</p>	<p>Determinar la susceptibilidad de la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 frente al extracto hidroalcohólico de raíz <i>Geranium filipes</i> Killip (Ajotillo); a diversas concentraciones, en comparación con el antibiótico ciprofloxacino.</p>	<p>La cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 es más susceptible frente al extracto hidroalcohólico de raíz <i>Geranium filipes</i> Killip (Ajotillo) en sus diversas concentraciones, en comparación con el antibiótico ciprofloxacino.</p>

ANEXO C: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Variable independiente : Extracto hidroalcohólico de raíz <i>Geranium filipes</i> Killip (Ajotillo).	Solución obtenida de recursos vegetales mediante maceración al ser sumergido en una solución de alcohol por diez días, siendo secado en una estufa a 40°C, obteniendo finalmente la concentración deseada (9-13)	Es una solución derivada del extracto hidroalcohólico de raíz de <i>Geranium filipes</i> Killip (Ajotillo), la cual fue inicialmente seleccionada, desecada, pulverizada y macerada en alcohol al 70% pasada finalmente por un rotavapor hasta obtener las diferentes concentraciones.	Concentración del extracto de <i>Geranium filipes</i> Killip (Ajotillo)	20% 40% 80% 100%	Porcentajes
			Efecto fitoquímico	Presencia de metabolitos secundarios	Ausente (-) Leve (+) Moderado (++) Abundante (++++) (+++++)

<p>Variable dependiente: Efecto antimicrobiano</p>	<p>Es la acción que implica la restricción (parcial o total) del crecimiento de microorganismos frente a una sustancia química o proveniente de algún recurso natural (6-8)</p>	<p>Es la acción que implica la restricción (parcial o total) del crecimiento de microorganismos, como la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>, frente al extracto hidroalcohólico de <i>Geranium filipes</i> Killip a través del método Kirby Bauer, donde dependiendo del tamaño del halo de inhibición producido permite determinar su eficacia.</p>	<p>Inhibir el crecimiento bacteriano</p>	<p>Diámetro de la zona de inhibición en milímetros.</p>	<p>≤ 8mm: Nula 9 - 14mm: sensibilidad límite 15 – 19: Sensibilidad media ≥ 20mm: Sumamente sensible</p>
---	---	---	--	---	---

ANEXO D: Carta de aprobación de la Universidad María Auxiliadora



ACTA DE CONFORMIDAD DEL PROYECTO EMITIDO POR EL ASESOR

Lima, 24 del octubre del 2023

Dr. Jhonnell Williams Samaniego Joaquin

Director de la EP de Farmacia y Bioquímica

Universidad María Auxiliadora

Presente. -

De mi mayor consideración:

Es grato saludarle e informarle que luego de revisar el Proyecto de Tesis titulado: "EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALHOLICO DE LA RAÍZ DE *Geranium Fillipes Killip* (ajotillo) frente a cepas de *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923", presentado por la alumna : **JENNY MIRELLY HUAMAN PASTOR** identificado con **DNI N° 72497465** y la alumna **VERONICA HUALLPA CONDORI** , identificado con **DNI N° 73027015**, manifiesto mi conformidad ya que cumple con todos los requisitos académicos solicitados por la Universidad María Auxiliadora, el mismo que cumple con la originalidad establecida en el artículo 12.3 del Reglamento del Registro Nacional de Trabajo de Investigación para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales - RENATI.

Asimismo, el proyecto del trabajo de investigación será desarrollado y ejecutado en el plazo máximo de 1 año, para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Del mismo modo, manifiesto a Ud. mi aceptación de participar como ASESOR de la referida Tesis.

* Se adjunta rúbrica de evaluación de proyecto de trabajo de investigación y declaración de similitud Turnitin (con los filtros de excluir citas, excluir bibliografía y excluir fuentes que tengan menos de 1%).

Atentamente,

DR. RODRIGUEZ LICHTENHELDT JOSE EDWIN ADALBERTO
ASESOR DE TESIS

ANEXO E: Certificación taxonómica



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA N° 13-2024-HUSA

El director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra biológica presentada por los Bachilleres Huamán Pastor, Jenny Mirelly y Huallpa Condori, Verónica de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora, para la realización de su tesis "EVALUACION DEL EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA RAIZ DE *Geranium filipes* Killip (*ajotillo*) FRENTE A CEPAS ATCC DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el Herbarium Arequipense (HUSA) y corresponde a la siguiente especie.

Division Magnoliophyta
Clase Magnoliopsidae
Subclase Dillenidae
Orden Geraniales
Familia Geraniaceae
Genero Geranium
Especie *Geranium filipes* Killip

Se le expide la presente a solicitud del interesado

Mg. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)


Arequipa, 23 de abril del 2024

ANEXO F: Certificado Microbiológico

Microbiologics

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-575** Reference Number: ATCC® 25923™* Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2024/10/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mariah H Smith Release Date: 2022/11/22
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	

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

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.
 Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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



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



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)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence 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)	Low consistency: 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)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2022-11-09T16:00:05.677
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
G5 (+++) (A)	360-575	Staphylococcus aureus	2.46

Comments:

N/A

ANEXO G: Evidencias fotográficas



Figura 1: Recolección del recurso vegetal



Figura 2: Selección del recurso vegetal

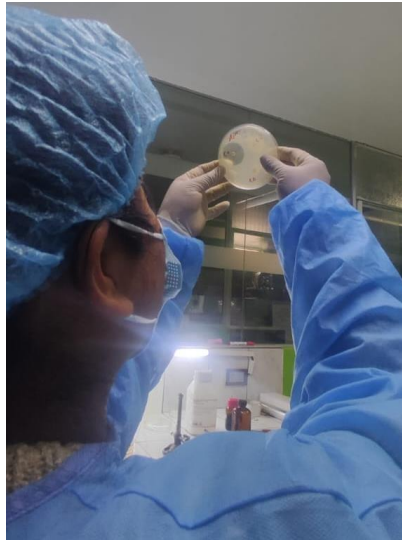


Figura 3: Identificación del halo de inhibición

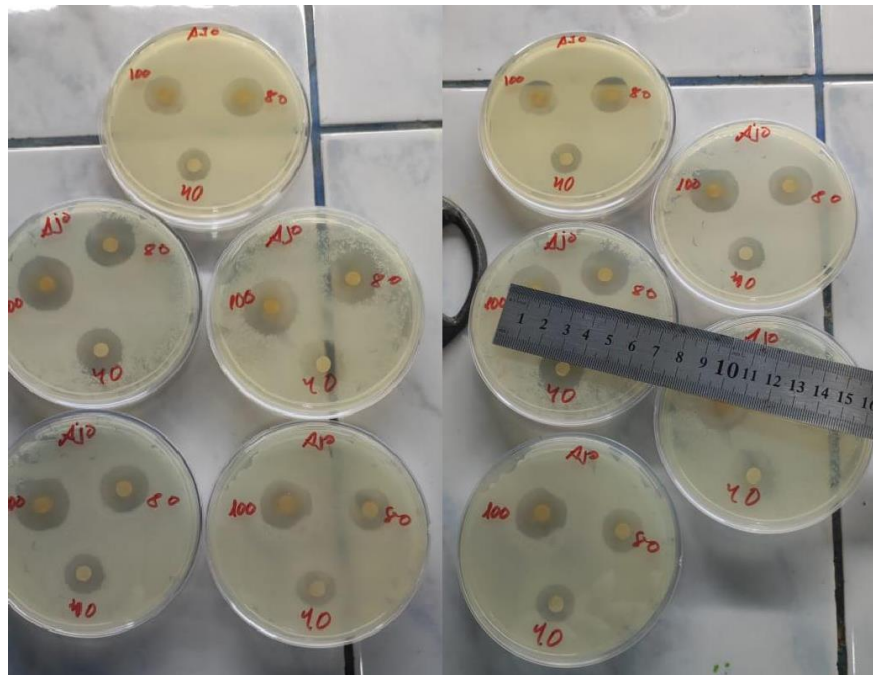


Figura 4: Medición de los halo de inhibición