

**LAPORAN AKHIR**

**PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI (U)**



**PENGEMBANGAN OBAT HERBAL TERSTANDAR CEPLUKAN (*Physalis Minima* L) SEBAGAI  
TERAPI SULIH HORMON PADA WANITA *POST MENOPAUSE***

Tahun ke satu dari rencana tiga tahun

**PENGUSUL**

**Dr. drg. Nur Permatasari, MS (0005106007)**  
**dr. Dian Nugrahenny, M.Biomed (0024078403)**  
**Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes (0027105203)**

Dibiayai oleh :

Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi,  
Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Melalui DIPA Universitas Brawijaya  
Nomor : DIPA-023.04.2.414989/2013, Tanggal 5 Desember 2012, dan berdasarkan  
SK Rektor Universitas Brawijaya Nomor :407/SK/2013 tanggal 2 September 2013

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**NOVEMBER 2013**

## ABSTRAK

**latar belakang :** *Physalis minima* L (ceplukan) mengandung withanolide yang merupakan prekursor hormon dan dapat diubah menjadi hormon bila dibutuhkan. Ekstrak metanol *Physalis minima* telah libuktikan mempunyai efek yang menyerupai estradiol.

**Tujuan :** Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan ekstrak metanol dan ekstrak air *Physalis minima* pada perbaikan simtom/ sindroma *postmenopause* dan mengukur kandungan physalin dan withanolide di dalam ekstrak tersebut.

**Metode:** Tikus wistar betina umur 12 minggu sebanyak 40 ekor diovariectomi (ovx). Lima minggu pasca ovariektomi tikus dibagi menjadi delapan kelompok yang meliputi ovx 5minggu, ovx 9 minggu, ovx 5 minggu yang diberi ekstrak metanol atau ekstrak air *Physalis minima* dosis 500, 1500 dan 2500 mg/kgBB selama 4 minggu. Disamping itu disediakan juga tikus normal tanpa perlakuan. Pada akhir penelitian dilakukan pengukuran berat badan, tekanan darah, volume air mata dan perilaku depresi. Selain itu kadar estradiol, CTX, Nmid, kolesterol trigliserida, LDL, HDL diukur menggunakan kit ELISA; uterus diambil dan dibersihkan dari jaringan atau lemak kemudian ditimbang, sedangkan aorta diambil untuk dilakukan pemeriksaan fungsi vaskuler. Kadar Physalin dan withanolide di dalam ekstrak *Physalis minima* diukur menggunakan HPLC.

**Hasil :** Hasil penelitian memperlihatkan bahwa tikus ovx kadar estradiol menurun dan berat uterus menurun secara signifikan ( $p < 0.05$ ) dan uterus menjadi atrofi. Disamping itu tikus ovx juga memperlihatkan sindroma *postmenopause* meliputi tekanan darah meningkat, volume air mata menurun, kondisi depresi meningkat dan respons relaksasi aorta menurun secara signifikan. Sedangkan gejala lain yaitu kesehatan tulang dan metabolisme lipid dan kadar glukosa darah terjadi perubahan yang tidak signifikan. Dari uji korelasi didapatkan bahwa gejala *post menopause* tersebut mempunyai korelasi yang kuat dan signifikan dengan kadar estradiol serum. Pemberian ekstrak metanol maupun ekstrak air *P.minima* pada tikus ovx dapat memperbaiki gangguan pada tekanan darah, volume air mata, perilaku depresi dan respons relaksasi aorta. Dari uji korelasi didapatkan bahwa perbaikan sindroma tersebut tidak berkorelasi dengan kadar estradiol. Pada pengukuran senyawa aktif, di dalam ekstrak metanol didapatkan physalin sebesar 0,196 mg/g dan withanolide sebesar 0,0286 mg/g, sedangkan di dalam ekstrak air physalin tidak terukur dan withanolide sebesar 0,0195mg/g.

**Kesimpulan :** Ekstrak *P.minima* dapat menurunkan/menghilangkan sindroma post menopause pada tikus yang diovariectomi, dan sebagai penanda atau senyawa aktif yang berperan pada efek tersebut adalah withanolide. Penggunaan ekstrak air *P.minima* lebih dipilih menjadi cara penggunaannya karena mempunyai efek yang lebih besar dan profil kromatografi yang lebih jelas sehingga lebih mudah melakukan standadisasi *P.minima*.

**Kata kunci :** *Physalis minima* (ceplukan), fitoestrogen, sindroma *postmenopause*

## ABSTRACT

**Background:** *Physalis minima* L. (ceplukan) contains withanolides which are a hormone precursor and can be converted into physiologic hormones as needed. Methanol extract of *Physalis minima* has been demonstrated have effects that mimic estradiol.

**Aim:** This study aims to prove the methanol extract and aqueous extract of *Physalis minima* on improvement of postmenopausal syndromes and to measure the content physalin and withanolide in the extract.

**Methods:** Forty female Wistar rats age of 12 week were ovariectomized. Five weeks after ovariectomy the rats were divided into eight groups including OVX 5 weeks, OVX 9 weeks, OVX 5 weeks that treated with extracts of methanol or water of *Physalis minima* at dose of 500, 1500 and 2500 mg / kg for 4 weeks, respectively. Besides, the normal rats without treatment were grouped as normal-control. At the end of the experiment, we measured the body weight, blood pressure, the volume of tears and depression like-behavior. Moreover the level of estradiol, CTX, Nmid, cholesterol triglycerides, LDL, HDL were measured using ELISA kits. The uterus and aorta were rapidly removed, free of fat, then uterus weighed while aorta were immediately transfer to Krebs's solution for vascular function analysis. Physalin and withanolide levels in extracts of *Physalis minima* measured using HPLC.

**Results:** The results showed that in OVX rats, estradiol levels and uterine weight decreased significantly ( $p < 0.05$ ). In addition, in OVX rats also showed the other postmenopausal syndrome include increased blood pressure, decreased tear volume, increased depression like-behaviour and decreased aortic relaxation response to methacholine. While the symptoms of bone health (CTX and Nmid) and lipid profile were no significantly impaired. The correlation test results showed that the symptoms of post menopause have a strong and significant correlation with serum estradiol levels. Methanol extract and water extract of *Physalis minima* in OVX rats could restore the blood pressure, volume of tear, depression like-behaviour, aortic relaxation response to methacholine. The correlation test results showed that the improvement of the syndrome did not correlate with estradiol levels. In the measurement of active compounds, in the methanol extract obtained physalin of 0.196 mg / g and withanolide at 0.0286 mg / g, whereas in the aqueous extract obtained withanolide of 0.0195 mg / g but physalin could not be detected.

**Conclusion:** Extract of *Physalis minima* can lower or repair the post menopausal syndrome in ovariectomized rats, and we assumed that the active compound that play a role in these effects is withanolide. The water extract of *P.minima* is preferred to be used in the treatment of postmenopausal syndrome because it has a greater effect and has a simple chromatographic profile so it is easier on standardization of *Physalis minima*.

**Key words:** *Physalis minima*, phytoestrogen, postmenopausal syndromes



## RINGKASAN

Berdasarkan Biro Pusat Statistik, penduduk Indonesia di tahun 2020 mencapai 262.6 juta, dan sekitar 48.2 juta adalah wanita menopause. Sampai saat ini masih terdapat kesenjangan antara kebutuhan penanganan *post menopausal syndrome* pada wanita Indonesia yang setiap tahunnya terus bertambah dan pengobatan yang sekarang ada. *Physalis minima* L (ceplukan) merupakan salah satu tanaman yang dianggap sebagai gulma oleh petani. Berdasarkan kajian pustaka, ceplukan mengandung steroid alami seperti *physalin* dan *withanolides*. Hasil penelitian *in vitro* pada kultur sel, ceplukan juga menunjukkan mekanisme kerja yang mirip estrogen.

Penelitian ini bertujuan mengembangkan ceplukan sebagai herbal terstandar untuk terapi sulih hormon pada wanita *post menopause*. Penelitian direncanakan selama tiga tahun dengan tahapan sebagai berikut: pada tahun pertama dibuktikan bahwa sediaan (ekstrak metanol dan dekok) ceplukan dapat menghilangkan gejala *post menopausal syndrome* pada hewan coba model menopause. Disamping itu juga akan ditentukan senyawa aktif (*physalin* dan *withanolides*) sebagai penanda efek estrogenik ceplukan. Pada tahap kedua penelitian ditujukan untuk mempelajari efek samping sub kronik penggunaan sediaan ceplukan agar dapat ditentukan kontra indikasi penggunaannya. Penelitian dilakukan pada hewan coba dengan mengevaluasi struktur dan fungsi organ utama (jantung, liver dan ginjal) dan pemeriksaan darah lengkap. Disamping itu juga akan ditentukan dosis (meliputi besar sediaan dan interval pemberian) dengan mempelajari kinetik kadar senyawa penanda pada darah dan urin. Berdasarkan hasil penelitian tahap kedua diharapkan dapat dilanjutkan penelitian tahap ketiga yang menggunakan sukarelawan wanita menopause dengan jumlah terbatas untuk mengevaluasi kemanfaatan dan keamanan penggunaan sediaan ceplukan sebagai terapi sulih hormon. Penelitian tahun ketiga akan dilakukan dengan bekerja sama dengan tempat pelayanan pengobatan tradisional mitra kerja Balai Materia Medika, yang merupakan UPT Dinas Kesehatan Jawa Timur. Dengan demikian melalui ketiga tahapan penelitian tersebut akan didapatkan luaran penelitian adalah obat herbal terstandar sebagai terapi sulih hormon yang siap untuk diterapkan kepada masyarakat.

Penelitian tahap satu dilakukan pada tikus ovariectomi. Pemberian ekstrak *Physalis minima* dilakukan pada setelah ovariectomi 5 minggu. Ekstrak metanol atau ekstrak air daun ceplukan dengan dosis masing-masing 500, 1500 dan 2500 mg/kgBB diberikan selama 4 minggu. Untuk kelompok tikus kontrol terdiri dari tikus tanpa perlakuan, tikus dengan perlakuan ovariectomy 5 mg dan 9 minggu. Sindroma pasca ovariectomi (*post menopause*) yang dipelajari adalah kesehatan tulang, metabolisme lipid, tekanan darah dan kesehatan pembuluh darah, mata dan kondisi psikologi (depresi) serta sistem reproduksi (berat dan gambaran histopatologis uterus). Disamping itu ditentukan *physalin* dan *withanolide* yang diduga merupakan senyawa aktif yang berperan pada timbulnya efek ekstrak *Physalis minima*. Kesehatan tulang ditentukan dengan mengukur CTX sebagai penanda resorpsi tulang dan Nmid sebagai penanda pembentukan tulang; metabolisme lipid diukur trigliserida, kolesterol, LDL dan HDL menggunakan ki ELISA; tekanan darah diukur menggunakan animal blood pressure analyzer, kesehatan pembuluh darah ditentukan dengan mengukur respons relaksasi aorta terisolasi terhadap metakolin menggunakan power lab, volume air mata diukur menggunakan schirmer test, kondisi depresi diobservasi menggunakan force swim test dengan menentukan durasi tikus melayang. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa tikus yang divariectomi kadar estradiol menurun secara signifikan, berat uterus menurun dan menjadi atrofi. Pada tikus ovariectomi juga didapatkan sindroma *post menopause* seperti tekanan darah meningkat,

respons relaksasi dari aorta menurun, volume air mata menurun, kondisi depresi meningkat secara signifikan. Sedangkan gejala lain yaitu kesehatan tulang dan metabolisme lipid darah terjadi perubahan yang tidak signifikan. Dari uji korelasi didapatkan bahwa perubahan / gejala post menopause tersebut mempunyai korelasi yang kuat dan signifikan dengan kadar estradiol serum. Pemberian ekstrak metanol maupun ekstrak air *Physalis minima* dapat memperbaiki gejala post menopause seperti tekanan darah tinggi, gangguan respons relaksasi aorta, volume air mata dan kondisi depresi. Hasil uji korelasi mengindikasikan bahwa perbaikan sindroma tersebut tidak berkorelasi dengan kadar estradiol. Hal tersebut menunjukkan bahwa efek *Physalis minima* tidak melalui meningkatnya estradiol tetapi diduga melalui efek estrogenik. Pada pengukuran senyawa aktif *P. minima* *Physalin* dan *Withanolide* menggunakan HPLC didapatkan bahwa di dalam ekstrak metanol didapatkan *physalin* sebesar , sedangkan di dalam ekstrak air *physalin* tidak terukur dan *withanolide* sebesar . Dari hasil uji LSD menunjukkan bahwa pada sindroma tekanan darah, volume air mata, dan kondisi depresi efek yang ditimbulkan oleh ekstrak air *P. minima* lebih besar dibandingkan dengan efek ekstrak metanol *P. minima*. Dengan demikian pada penelitian ini terbukti bahwa ekstrak *P. minima* dapat menurunkan/menghilangkan sindroma post menopause pada tikus yang ovariectomi, dan senyawa aktif yang berperan pada efek tersebut adalah *withanolide*. Penggunaan ekstrak air *P. minima* lebih dipilih menjadi cara penggunaannya karena mempunyai efek yang lebih besar dan profil kromatografi yang lebih simpel sehingga lebih mudah melakukan standarisasi *P. minima*.

Kata kunci : *Physalis minima* (ceplukan), fitoestrogen, terapi sulih hormon, menopause

## SUMMARY

Based on Central Bureau of Statistics, the population of Indonesia in 2020 reached 262.6 million, and approximately 48.2 million are postmenopausal women. Until now it is still necessary to develop the treatment for post-menopausal syndrome in postmenopausal women. *Physalis minima* is annual herbs that usually grown as weed in the crop field. Based on literature review, *physalis minima* contains natural steroids such as withanolides, which are the hormone precursor. In vitro studies in cultured endothelial cells, *Physalis minima* have also demonstrated a similar mechanism of estrogen action.

This research aimed to develop a standardized herbal of *Physalis minima* for hormone replacement therapy in postmenopausal women. The study was planned for three years with the following stages in the first year demonstrated that the extract *physalis minima* could eliminate or restore the symptoms of post-menopausal in animal models of menopause (ovariectomized rats). Besides, it would also determine the active compound (physalin and withanolides) as a marker of estrogenic effects of *Physalis minima*. In the second year of the research aimed to study the side effects of chronic use of *Physalis minima* so that the contra indications for use can be determined. The study was conducted in rats by evaluating the structure and function of major organs (heart, liver and kidneys) and a complete blood count. In addition, it will also determined the dosage (such as the dose and interval of administration) by studying the pharmacokinetic of active compounds taken from the blood and urine. Based on the research results, we do the third phase of research that uses volunteers postmenopausal women in limited quantities to evaluate the efficacy and safety of dosage *Physalis minima* as hormone replacement therapy. The study of third year will be conducted in cooperation with the traditional medicine services as a partner of *Materia Medika*, a Unit Medical Officer in East Java. Thus through the three phases of the study, the outcome will be obtained is a standardized herbal of *Physalis minima* as a hormone replacement therapy that is ready to be applied to the public.

The first year of research has been done on ovariectomized rats. Extract of *Physalis minima* were given in rats at 5 weeks post ovariectomy. The methanol extract or water extract of *Physalis minima* (from leaf and stem) with each dose of 500, 1500 and 2500 mg/kg respectively were administered for 4 weeks. For the control group consisted of rats without treatment, groups of rats 5 weeks post ovariectomy and groups of rats 9 weeks post ovariectomy. Postmenopausal syndrome that have been studied include bone health, lipid profile, blood pressure and blood vessel function, the volume of tears and psychological conditions (depressive like behaviour) as well as the reproductive system (uterus weight and histopathologic features). Besides, in this study determined physalin and withanolide, which are thought to be the active compound that plays a role in the effects of extract of *Physalis minima*. Bone health was determined by measuring CTX as a marker of bone resorption and Nmid, as a marker of bone formation; blood lipid profiles were measured include triglycerides, cholesterol, LDL and HDL using ELISA kit; animal blood pressure was measured using a blood pressure analyzer, blood vessel function was analyzed by measuring the response relaxation of isolated aorta to methacholine that recorded by a power lab system, the tear volume was measured using a Schirmer strip test, depressive like behaviour were observed using the method of the force swim test.



The results showed that in OVX rats, estradiol levels and uterine weight decreased significantly ( $p < 0.05$ ). In addition, in OVX rats also showed the other postmenopausal syndrome include increased blood pressure, decreased tear volume, increased depression like-behaviour and decreased aortic relaxation response to methacholine. While the symptoms of bone health (CTX and TRAcP) and lipid profile were not significantly impaired. The correlation test results showed that the methanol extract and water extract of *Physalis minima* in OVX rats could restore the blood pressure, volume of tear, depression like-behaviour, aortic relaxation response to methacholine. The correlation test results showed that the improvement of the syndrome did not correlate with estradiol levels. In the measurement of active compounds, in the methanol extract obtained physalin of 0.196 mg/g and withanolide at 0.0286 mg/g, whereas in the aqueous extract obtained withanolide of 0.0195 mg/g but physalin could not be detected.

In conclusion that extract of *Physalis minima* can lower or repair the postmenopausal syndrome in ovariectomized rats, and we assumed that the active compound that play a role in these effects is withanolide. The water extract of *P. minima* is preferred to be used in the treatment of postmenopausal syndrome because it has a greater effect and has a simple chromatographic profile so it is easier to conduct the standardization of *Physalis minima*.

Key words : *Physalis minima*, phytoestrogen, postmenopausal syndromes

## DAFTAR PUSTAKA

- Ashraf&Vongpatanasin.2006. Estrogen and hypertension. *Current Hypertension Res*. 8(5):368-76
- Ariana W.,Hidayat M,Permatasari. 2012. Peran genistein dalam meningkatkan pembentukan dan menghambat resopsi tulang rattus novergicus wistar hipoestrogen melai superoksid dan hidrogen perokside. Disertasi PDIK FKUB
- Biro Pusat Statistik.2005. Proyeksi Penduduk Indonesia
- Baziad, A. 1997. *Country-Specific Information in Indonesia*. In *First Consensus Meeting on Menopause in the East Asian Region*. Geneva, 26-30<sup>th</sup> May.
- Chang SS, 2002. *Ciplukan*, (on line), ([http://www.changjaya-abadi.com/alternatif\\_06.htm](http://www.changjaya-abadi.com/alternatif_06.htm), diakses 19 November 2002).
- Chothani DL, Vaghasiya HU . 2012. A Phyto-pharmacological review on *Physalis minima* L. *Indian Journal of Natural Products and Resources*; 3(4).477-482
- Doma M, Abhayankar G, Reddy VD, Kishkar PD. 2012. Carboxy and elicitor enhanced withanolide accumulation in hairy root culture of *withania Somnifera*.*Indian Journal of Experiment Biology*. 50:484-90
- Dongaonkar D, Mehta R, Kolhapure SA. Evaluation of the Efficacy and Safety of Reosto in Postmenopausal Osteoporosis: A Prospective, Randomized, Placebo-Controlled, DoubleBlind, Phase III Clinical Trial. *Obst. & Gynae. Today* 2005; X(7), 362-367
- Efendi M, 1998. Pengaruh Alkaloid Daun Ciplukan (*Physalis minima* L) terhadap Kontraktilitas Sediaan Aorta Terpisah Kelinci dengan Stimulasi Noradrenalin Eksogen. *Skripsi S<sub>1</sub>*. Malang: Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Gupta A and Gupta R. A survey of Plants for Presence of Cholinesterase Activity. *Phytochemistry*. 1997; 46 (5): 827-831.
- Huang J, Wang S, Zhy M, Chen J, Zhu X. 2011.Effects of Genistein, Apigenin, Quercetin, Rutin and Astilbin on serum uric acid levels and xanthine oxidase activities in normal and hyperuricemic mice. *Food and Chemical Toxicology*; 49(9):1943-1947
- Heyne K, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid 2. Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan. Jakarta: Yayasan Sarana Warna Jaya.
- Kirson I, Zaretskii Z and Glotter E, 1976. in: Sen G and Pathak HD. Physalin L, A 13, 14–seco-16, 24 cyclosteroid from *Physalis minima*. *Phytochemistry*. 1995; 39 (35): 1245-1246.
- Kurger, M.S. Dietary Phytoestrogen. *Annual Reviews Nutrition*. 1997. p. 353-355.
- Khoiriyah F, Permatasari N. 2005. Efek ekstrak daun ceplukan (*Physalis minima* L) pada sediaan pembuluh darah aorta terpisah. Skripsi. Fakultas Kedokteran UB
- Maheswari H, 2002. Pemanfaatan Obat alami: Potensi dan prospek Pengembangannya. *Tugas mata kuliah Falsafah Sains (PP<sub>5</sub>702)*, (on line). Bogor: Program Pasca Sarjana (S<sub>1</sub>) Institut Pertanian Bogor, ([http:// rudycr\\_tripod.com/sem2\\_012 /hera\\_Maheswari.htm](http://rudycr_tripod.com/sem2_012/hera_Maheswari.htm), Diakses 8 Juni 2002).
- Matsuura T, Kawai M, Nakashima R and Butsugan, 1970. In: Sen G and Pathak HD. Physalin L, A 13, 14–seco-16, 24 cyclosteroid from *Physalis minima*. *Phytochemistry*. 1995; 39 (35): 1245-1246.
- Mohana K, Uma R and Purushottaman KK, 1979. in: Sen G and Pathak HD. Physalin L, A 13, 14–seco-16, 24 cyclosteroid from *Physalis minima*. *Phytochemistry*. 1995; 39 (35): 1245-1246.
- Mulchandani NB, Iyer SS ang Badheka LP, 1979. in: Sen G and Pathak HD. Physalin L, A 13, 14–seco-16, 24 cyclosteroid from *Physalis minima*. *Phytochemistry*. 1995; 39 (35): 1245-1246.
- Murano T, Izumi C, Kika G et al.,2003. Impact of menopause on lipid and bone metabolism and effect of HRT. *Tokai J Exp Clin Med*.28(3):109-119



- Moltalcini T, Gorgone G, Gaszaruso C, Sesti G, Particone F, Pujia A. 2009. Relation between serum uric acid and carotid intima media thickness in healthy post menopause. *Internal Emergency Medicine*. 2:19-23
- Permatasari N, Nurdiana, Setyawati. 2007. Efek non genomic dan genomic daun ceplukan (*Physalis minima* L) pada kultur sel endotel. Laporan Penelitian Dasar DIKNAS
- Permatasari N, Nugrahenny D, Sasangka. 2009. Ceplukan menginduksi kolokalisasi estrogen reseptor dan eNOS pada kultur sel endotel. Laporan Hibah Penelitian Strategis Nasional.
- Ritche RK, 1998. *Reporting Biological Assay Result on Tropical Medical Plant to Host Country Collaborators*, (on line), (<http://www.rain-tree.com/mullaca.htm>, diakses 20 November 2002)
- Rinaldi G, Christoffel J, Dana S, Jarry H, Wuttke W. 2007. Estrogen and Reproduction. *Environmental Health Perspective*. 115(1):62-68
- Row LR, Sarma NS, Matsuura T and Nakashima I, 1978, in: Sen G and Pathak HD. Physalin L, A 13, 14-seco-16, 24 cyclosteroid from *Physalis minima*. *Phytochemistry*. 1995; 39 (35): 1245-1246.
- Sen G and Pathak HD. Physalin L, A 13, 14-seco-16, 24 cyclosteroid from *Physalis minima*. *Phytochemistry*. 1995; 39(35): 1245-1246
- Setiawan, 1982. Pemeriksaan Senyawa Cecendet (*Physalis minima* Linn). Skripsi. Bandung: Farmasi Fakultas MIPA Institut Teknologi Bandung.
- Shi, Chun. Effects of Phytoestrogen in Brain and Neurodegenerative Diseases. *Neuroembryology and Aging*. 2007. 7 (4) :162-164.
- Shi, Chun. Effects of Phytoestrogen in Brain and Neurodegenerative Diseases. *Neuroembryology and Aging*. 2007. 7 (4) :162-164.
- Singh AP, 2002. *Withanolides-Much Talked Natural Product*, (on line), ([http://www.healthstores.com/ayurveda/mar2002\\_newsletter.htm](http://www.healthstores.com/ayurveda/mar2002_newsletter.htm), diakses 20 Oktober 2004).
- Stennis VCGG, 2003. *Flora*. Jakarta: PT Pradnya Paramita. hlm.363-364.
- Strehlow K, Werner N, Berwiler J et al., (2003). Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cells production and diminishes neointima formation. *Circulation* 107:
- Thomson LR, Toyoda Y, Wang ZY, Delori FC and Dorey CK, 2003. *Study Demonstrates Essential Role of Zeaxanthin in Eye Health*, (on line), (<http://www.mdsupport.org/library/zeaxanthin.html>, diakses 20 Oktober 2004).
- Tjitrosoepomo G, 1989. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm. 32,355.
- Xu B, Ju C, Guan H, Xiu L, Xu N, Wang B. 2012. High performance LC determination of five active ingredients in the calyces of *Physalis alkalengi* L var *franchetii* Mckino. *Journal of Medicinal plant res*.6(2): 2438-2442
- Wakhidatin N, 1996. Pengaruh Ekstrak Alkohol dari Daun *Physalis minima* L (ceplukan) terhadap Kontraktibilitas Sediaan Arteri Terpisah Tikus (*Rattus rattus* Strain Wistar). Skripsi. Malang: Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.