

EFEK PEMBERIAAN VITAMIN C TERHADAP PROFIL FARMAKOKINETIKA NATRIUM DIKLOFENAK DENGAN DATA URIN KUMULATIF PADA TIKUS PUTIH JANTAN

Zola Efa Harnis

Program Studi S1 Farmasi Universitas Imelda Medan

Article Info

Keywords:

Na-diclofenac
Vitamin C
Pharmacokinetic Parameters
Cumulative Urine

ABSTRACT

Research on the effect of vitamin C administration on the absorption of diclofenac sodium in male rats orally has been carried out. As is well known, vitamin C can increase metabolic activity and excretory activity of a drug. Therefore we want to know in this research which is seen from the cumulative urine data. This research is distinguished from two treatments, namely without giving vitamin C and by giving vitamin C 50mg / kg BW for 7 consecutive days. Diclofenac sodium is given at a dose of 25 mg / kg BW. In each treatment using toluene as a preservative and 96% ethanol to precipitate protein in rat urine, 6 rats were used in each treatment. Diclofenac sodium content was determined by ultraviolet spectrophotometry at a wavelength of 280 nm. Then calculated the value of the vitamin c parameter against the Diclofenac sodium parameter by statistical analysis of the difference between the two means. The results showed that the increase in the excretion capacity of Diclofenac sodium through the kidneys could not be recovered in the urine. It is known from the A_{∞} value, without the provision of vitamin C 70.8776 ± 14.8825 experienced an insignificant decrease to 65.9726 ± 16.2232 . The decrease in A_{∞} value was followed by a significant increase in the excretion rate of diclofenac Na (Ku) ($p < 0.05$). The increase in Ku value indicated the ability of the kidneys to excrete diclofenac Na. In addition, at the $t_{1/2}$ value, elimination showed a decrease, which means that diclofenac sodium in the body becomes smaller after vitamin C administration. The administration of vitamin C 50 mg / kg BW affects metabolic activity and excretion where Km and Exe increase significantly ($p < 0.05$).

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

Zola Efa Harnis,
Program Studi S1 Farmasi,
Universitas Imelda Medan,
Jl. Bilal No. 52 Kelurahan Pulo Brayan Darat I Kecamatan Medan Timur, Medan - Sumatera Utara.
Email: zolaefaharnisgh@gmail.com

1. INTRODUCTION

Natrium diklofenak merupakan derivat sederhana fenil asetat yang termasuk Non-Steroid Anti-Inflammatory Drug (NSAID) yang terkuat anti radangnaya (Emami, et al., 2007) dan dianjurkan untuk kondisi

peradangan kronis seperti artritis rematoid, osteoarthritis, pengobatan nyeri otot rangka akut dan pasca pembedahan analgesia (Yilmaz et al., 2011).

Natrium diklofenak mengalami first pass metabolisme sehingga hanya 50% obat yang mencapai sirkulasi sistemik. Absorpsi natrium diklofenak melalui saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap. Obat ini terikat 99% pada protein plasma dengan waktu paruh yang singkat 1-2 jam (Anggraeni et al, 2012). Natrium diklofenak memiliki nilai pKa4, di mana praktis tidak larut dalam larutan asam, tetapi larut dalam cairan usus (Robinson, et al., 1995). Jadi absorpsi obat diklofenak secara oral tidak dipengaruhi oleh pH lambung (Alioth, et al., 1993).

Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air yang mudah diserap dan cepat diekresi lewat urin. Eksresi melalui urin dalam bentuk utuh dan bentuk garam sulfatnya terjadi jika kadar dalam darah melewati ambang rangsang (Ganiswara, 2000). Vitamin C banyak terdapat di sayuran, serta buah-buahan terutama jenis sitrus. Dalam tubuh terdapat di banyak jaringan, termasuk darah dan leukosit. Khasiatnya yang terpenting adalah pada dosis kuat dan anti bakteri, yang diperkirakan berdasarkan antioksidannya. Vitamin C juga banyak menstimulasikan proses metabolisme berkat system redoksnya, yakni mudah dioksidasi kembali (Tjay dan Kirana, 2007).

2. RESEARCH METHOD

Waktu dan Tempat Penelitian pada penelitian ini dilakukan dari bulan Oktober 2010 sampai Mei 2011 di Laboratorium Farmakologi, Pengukuran spektroskopi UV, dilakukan di laboratorium Biofarmasi Jurusan farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.

A. Alat Dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain centrifuge, spektrofotometri Uv-Vis, neraca analitik, timbangan kasar kg, alat penampung urin, vortex, labu ukur, kuvet, oral sonde, pipet volume, spuit injeksi, vial, polytube, pipet tetes dan *stopwatch*.

2. Bahan

Bahan-bahan pada penelitian ini adalah bentuk analisis (pa) yaitu, vitamin C (JT. Baker), Aquabides, HNO₃, Natrium diklofenak (BPOM), toluen 0,1 % dan Etanol 96%.

3. Hewan Percobaan

Tikus putih jantan sehat dengan berat 200-400 g.

B. Prosedur Kerja

1. Persiapan Alat-alat Gelas

Semua alat gelas yang digunakan direndam selama 1 malam dengan HNO₃ 3M, kemudian dicuci kembali dengan air detergen, dibilas dengan air keran minimal 3 kali. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 110° C (Khaskeli. et.al 2009).

C. Pembuatan Pereaksi

Pembuatan pereaksi dilakukan sesuai dengan prosedur Farmakope Indonesia edisi IV (1995), kecuali dinyatakan lain,

1. Pembuatan Larutan Vitamin C

Ditimbang vitamin c 1,0 g. Kemudian digerus dalam lumpang. Dimasukkan ke dalam labu tantukur 100 ml, ditambahkan dengan aquadest hingga 100 ml.

2. Asam Nitrat 3M

Dipipet 209,20 ml asam nitrat glasial (p) lalu dicukupkan dengan aquadest hingga 1 liter.

3. Pembuatan Larutan Induk Baku (LIB) Natrium diklofenak Perlakuan Tanpa Pemberiaan vitamin C

Timbang dengan teliti Natrium diklofenak dalam botol timbangan pada neraca kasar, diperoleh beratnya 20,60 g. Setelah itu timbang kembali obat dan botol timbangan pada neraca analitik diperoleh beratnya 20,5001 g, sehingga diperoleh berat na diklofenak adalah 99,9 mg., kemudian di masukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Tambahkan aquabidest, kocok sampai larut. Kemudian cukupkan dengan aquadest sampai garis tanda.

4. Mencari panjang gelombang Dengan Resapan Maksimum.

Diambil urin yang telah ditetesi dengan toluen ± 2ml, kemudian divortex dan di centrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Diambil larutan beningnya ± 1ml lalu ditambahkan 4 ml. Kemudian divortex dan di centrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Diambil 1 ml filtrat lalu dimasukkan dalam polytube. Di buat larutan induk baku Natrium diklofenak dengan memipet 0,4 ml LIB Natrium diklofenak tanpa perlakuan (499,5 mcg/ml) lalu dimasukkan dalam polytube lalu dicukupkan dengan filtrat hingga 1 ml dan ditambahkan aquabidest hingga volumenya 5ml.

Dipindahkan ke dalam kuvet dan dibaca intensitas warna yang terjadi pada panjang gelombang 276 nm.

5. Kurva Baku Natrium Diklofenak Perlakuan Tanpa Pemberian Vitamin.
Diambil urin yang telah ditetesi dengan toluen \pm 2ml, kemudian divortex dan di centrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. buat seri larutan Na-diklofenak dengan mengambil larutan LIB NDP II (499,5 mcg/ml) sebanyak: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 ml, dan masing – masing larutan ditambahkan filtrat sampai volumenya 1 ml dan cukupkan dengan aquabidest hingga 5 ml. Pindahkan ke dalam kuvet, dan baca intensitas warna yang terjadi pada spektrofotometer UV dengan panjang gelombang maksimum yang ditentukan di atas, plotkan resapan yang didapat untuk masing – masing seri larutan terhadap kadar Na-Diklofenak pada kertas grafik, dan tentukan persamaan garisnya dengan menggunakan persamaan kuadrat terkecil, yang selanjutnya kurva baku tersebut digunakan untuk perhitungan kadar Na- Diklofenak dalam urin tikus tanpa pemberian vitamin C.
6. Larutan Induk Baku Natrium diklofenak perlakuan dengan Pemberiaan vitamin C 50 mg/kg BB selama 7 hari berturut-turut.
Timbang teliti Natrium diklofenak dalam botol timbangan pada neraca kasar, diperoleh beratnya 20,60g. Setelah itu kembali obat dan botol timbangan pada neraca analitik diperoleh beratnya 20,5002g. Sehingga diperoleh berat Natrium diklofenak adalah 99,8 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, tambahkan aquabidest, kocok sampai larut kemudian cukupkan dengan aquabidest.

D. Penentuan Kadar Natrium Diklofenak dalam Urin Tikus Jantan

1. Pemberian Na-Diklofenak untuk Kelompok Perlakuan Tanpa Pemberian Vitamin C (Khaskheli. *et. al*, 2009)
Hewan percobaan (tikus) diadaptasikan selama 2 minggu dan dipuaskan selama 18 jam, satu jam sebelum diberikan obat masing – masing tikus diambil urinnya sebanyak 2 ml, setelah pengambilan urin 0 jam dilakukan pemberian Na-Diklofenak dengan oral sonde pada dosis yang telah disesuaikan dengan berat badan masing – masing tikus, dilakukan pengumpulan urin pada waktu sebagai berikut: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 dan 8 jam, kemudian dicatat volume total pada setiap waktu sampling. Dilakukan prosedur penetapan Na-Diklofenak dalam urin dengan memipet 2 ml urin yang telah ditampung dalam flakon yang telah berisi toluen 0,1%, lalu masukkan kedalam tabung centrifuge, dicentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, filtrat diambil \pm 1 ml, lalu ditambahkan 4 ml etanol 96%, dicentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, filtrat diambil \pm 1 ml, lalu dicukupkan dengan aquabidest hingga 5 ml dan dipindahkan ke dalam kuvet dan ukur intensitasnya pada spektrofotometri UV pada panjang gelombang 280 nm.

E. Penentuan Kadar Natrium Diklofenak dalam Urin Tikus Jantan

1. Pemberian Na-Diklofenak untuk Kelompok Perlakuan Tanpa Pemberian Vitamin C (Khaskheli. *et. al*, 2009).
Hewan percobaan (tikus) diadaptasikan selama 2 minggu dan dipuaskan selama 18 jam, satu jam sebelum diberikan obat masing – masing tikus diambil urinnya sebanyak 2 ml, setelah pengambilan urin 0 jam dilakukan pemberian Na-Diklofenak dengan oral sonde pada dosis yang telah disesuaikan dengan berat badan masing – masing tikus, dilakukan pengumpulan urin pada waktu sebagai berikut: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 dan 8 jam, kemudian dicatat volume total pada setiap waktu sampling. Dilakukan prosedur penetapan Na-Diklofenak dalam urin dengan memipet 2 ml urin yang telah ditampung dalam flakon yang telah berisi toluen 0,1%, lalu masukkan kedalam tabung centrifuge, dicentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, filtrat diambil \pm 1 ml, lalu ditambahkan 4 ml etanol 96%, dicentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, filtrat diambil \pm 1 ml, lalu dicukupkan dengan aquabidest hingga 5 ml dan dipindahkan ke dalam kuvet dan ukur intensitasnya pada spektrofotometri UV pada panjang gelombang 280 nm.
2. Kurva baku Na-Diklofenak Kelompok Perlakuan Dengan Pemberian Vitamin C.
Diambil urin yang telah ditetesi dengan toluen \pm 2ml, kemudian divortex dan di centrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm buat seri larutan Na-diklofenak dengan mengambil larutan LIB NDP II (499,5 mcg/ml) sebanyak: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 ml, dan masing – masing larutan ditambahkan filtrat sampai volumenya 1 ml dan cukupkan dengan aquabidest hingga 5 ml. Pindahkan ke dalam kuvet, dan baca intensitas warna yang terjadi pada spektrofotometer UV dengan panjang gelombang maksimum yang ditentukan di atas, plotkan resapan yang didapat untuk masing – masing seri larutan terhadap kadar Na-Diklofenak pada kertas grafik, dan tentukan persamaan garisnya dengan menggunakan persamaan kuadrat terkecil, yang selanjutnya kurva baku tersebut digunakan

untuk perhitungan kadar Na-Diklofenak dalam urin tikus dengan pemberian vitamin C 50 mg/kgBB selama 7 hari berturut – turut.

F. Penentuan Kadar Natrium Diklofenak dalam Urin Tikus Jantan

1. Pemberian Na-Diklofenak untuk Kelompok Perlakuan Tanpa Pemberian Vitamin C (Khaskheli. *et. al*, 2009).

Hewan percobaan (tikus) diadaptasikan selama 2 minggu dan dipuaskan selama 18 jam, satu jam sebelum diberikan obat masing – masing tikus diambil urinnnya sebanyak 2 ml, setelah pengambilan urin 0 jam dilakukan pemberian Na-Diklofenak dengan oral sonde pada dosis yang telah disesuaikan dengan berat badan masing – masing tikus, dilakukan pengumpulan urin pada waktu sebagai berikut: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 dan 8 jam, kemudian dicatat volume total pada setiap waktu sampling. Dilakukan prosedur penetapan Na-Diklofenak dalam urin dengan memipet 2 ml urin yang telah ditampung dalam flakon yang telah berisi toluen 0,1%, lalu masukkan kedalam tabung centrifuge, dicentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, filtrat diambil \pm 1 ml, lalu ditambahkan 4 ml etanol 96%, dicentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, filtrat diambil \pm 1 ml, lalu dicukupkan dengan aquabidest hingga 5 ml dan dipindahkan ke dalam kuvet dan ukur intensitasnya pada spektrofotometri UV pada panjang gelombang 280 nm.

2. Pemberian Na-Diklofenak untuk Kelompok Perlakuan dengan Pemberian Vitamin C (Khaskheli. *et. al*, 2009).

Hewan percobaan (tikus) diadaptasikan selama 2 minggu dan diberikan Vitamin C 50 mg/kgBB selama 7 hari berturut – turut. Pada hari keenam, setelah hewan percobaan diberikan Vitamin C maka hewan percobaan dipuaskan selama 18 jam, kemudian dilakukan pengambilan urin tikus pada 0 jam. Pada hari ketujuh, setelah diberikan vitamin C maka 4 jam kemudian diberikan Na-Diklofenak secara oral dengan menggunakan oral sonde dengan dosis yang telah disesuaikan dengan berat badan masing – masing tikus, lakukan pengambilan urin pada waktu – waktu sebagai berikut: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, kemudian di catat volume total pada setiap waktu sampling. Dilakukan prosedur penetapan Na-Diklofenak dalam urin dengan memipet 2 ml urin yang telah ditampung dalam flakon yang telah berisi toluen 0,1%, lalu masukkan kedalam tabung centrifuge, dicentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, filtrat diambil \pm 1 ml lalu ditambahkan 4 ml etanol 96%, dicentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit, filtrat diambil \pm 1 ml, lalu dicukupkan dengan aquabidest hingga 5 ml dan dipindahkan ke dalam kuvet dan ukur intensitasnya pada spektrofotometri UV pada panjang gelombang 280 nm.

3. RESULTS AND ANALYSIS

Pengukuran Natrium diklofenak didalam urin dilakukan pada panjang gelombang 280 nm (Clarke, 2004). Penetapan kadar Natrium diklofenak di dalam urin pada kelompok perlakuan tanpa vitamin c menggunakan persamaan garis $y = 0,016588x + 0,018048$, dengan koefisien korelasinya 0,9975. Kemudian penetapan kadar Natrium diklofenak di dalam urin pada kelompok perlakuan dengan vitamin c menggunakan persamaan garis $y = 0,017652x + 0,028143$, dengan koefisien koelasinya 0,9953.

Dari data tersebut dapat diketahui bahwa kedua kurva baku internal memenuhi persyaratan, sehingga kedua curva baku tersebut dapat digunakan untuk penentuan kadar Natrium diklofenak yang terdapat dalam urinn hasil eksresi urin kumulatif, lalu di cari hasil rata-ratanya.

Tabel. 1 Rata-rata \pm SD, Jumlah Natrium Diklofenak (Ae^{∞}) Yang Masih Dapat Ditentukan Dalam Urin Untuk Kelompok Perlakuan Tanpa Dan Dengan Pemberiaan Vitamin C 50 mg/kg BB Selama 7 Hari Berturut-Turut, n=6

T (jam)	Perlakuan	
	Tanpa Pemberian vitamin c	Dengan Pemberiaan vitamin c
6	9,3342 \pm 2,9333	8,20955 \pm 4,2290
12	17,8383 \pm 5,6319	14,9584 \pm 3,5663
18	30,7173 \pm 10,0525	24,8625 \pm 6,0847
24	40,8159 \pm 10,3248	36,5010 \pm 7,8383
30	50,3883 \pm 8,7497	44,8287 \pm 10,7041
36	59,3818 \pm 9,6887	51,7868 \pm 12,1825
42	65,8928 \pm 11,0148	59,7277 \pm 13,2005
48	70,8776 \pm 14,8825	65,9728 \pm 16,2232

Dengan memasukkan data kadar natrium diklofenak yang diperoleh pada setiap jam pada masing-masing tikus, maka penentuan parameter farmakokinetika data urin kumulatif dapat detentukan. Data parameter tersebut disajikan pada tabel berikut:

Tabel. 2 Nilai Parameter Farmakokinetika \pm SD Na-diklofenak, Kelompok Perlakuan Tanpa Pemberiaan Vitamin C Dan Edngan Pemberiaan Vitamin C 50 mg/kg BB Selama 7 Hari Berturut-Turut Pada Tikus Jantan, n= 6

Parameter	Perlakuan				Kesimpulan n(*)
	Tanpa Pemberian Vitamin C	Dengan Pemberian Vitamin C	NUS	NTS	
Ae^∞ (meg)	70,8776 \pm 14,8825	65,9726 \pm 16,2232	0,0642	t= \pm 2,23	p>0,05
K_{el} (jam ⁻¹)	0,0529 \pm 0,0362	0,2349 \pm 0,1987	10,7935	Q=4,25	P<0,05
K_u (jam ⁻¹)	0,00727 \pm 0,04362	0,03963 \pm 0,02727	14,34	Q=4,25	P<0,05
K_m (jam ⁻¹)	0,05167 \pm 0,02862	0,19528 \pm 0,1807	11,5848	Q=4,25	P<0,05
F_{el} (%)	13,3348 \pm 3,4897	11,7522 \pm 2,9420	0,8498	t= \pm 2,23	P<0,05
$T^{1/2}$ (jam)	20,6035 \pm 15,3452	6,8925 \pm 6,3252	1,7583	t= \pm 2,23	P<0,05

Dari tabel 1 dan tabel 2 dapat dilihat nilai Ae^∞ , tanpa pemberian vitamin c 70,8776 \pm 14,8825 mengalami penurunan yang tidak bermakna 65,9726 \pm 16,2232 maka, hal ini menunjukkan bahwa pemberian Natrium diklofenak dengan vitamin c tidak mempengaruhi jumlah Natrium diklofenak dalam urin. Hal ini juga bisa disebabkan karena kurang lengkapnya cuplikan urin yang diperoleh pada setiap perlakuan.

Penurunan nilai Ae^∞ ini juga diikuti dengan meningkatnya laju ekskresi Natrium diklofenak (K_u) yang bermakna (p<0,05), yang ditunjukkan dengan nilai untuk kelompok tanpa pemberian vitamin C 0,00727 \pm 0,00313 meningkat menjadi 0,03963 \pm 0,02727 pada perlakuan dengan pemberian vitamin C. Meningkatnya nilai K_u menunjukkan adanya kemampuan ginjal dalam mengekskresikan Natrium diklofenak, sehingga natrium diklofenak dalam urin masih ada.

Meningkatnya nilai K_u di atas lebih jelas lagi ditunjukkan dengan meningkatnya nilai fraksi natrium diklofenak yang dieliminasi (F_{el}). Nilai F_{el} untuk perlakuan tanpa pemberian vitamin C 13,3348 \pm 2,9420 (p<0,05). Peningkatan nilai fraksi obat yang dieliminasi tersebut di atas mempengaruhi juga nilai laju eliminasi natrium diklofenak. Pada perlakuan tanpa pemberian vitamin C 0,0529 \pm 0,0362 dan dengan perlakuan vitamin C 0,2349 \pm 0,1987 (p<0,05).

Nilai K_{el} di atas masih dapat juga dilihat nilai laju metabolisme. Dimana laju metabolisme (K_m) meningkat secara bermakna (p,0,05) pada perlakuan dengan pemberian vitamin C 0,05167 \pm 0,02862 dari pada perlakuan tanpa pemberian vitamin C 0,19528 \pm 0,1807 dari peningkatan ini dapat disimpulkan bahwa vitamin C dapat meningkatkan jumlah NADPH dalam mikrosom hepar sehingga aktifitas sitokrom P₄₅₀ dalam metabolisme meningkat.

Penurunan nilai Ae^∞ dan F_{el} dengan penurunan waktu paruh eliminasi Natrium diklofenak dalam urin (p<0,05) dimanat $t^{1/2}$ eliminasi untuk kelompok perlakuan tanpa pemberian vitamin C 20,06035 \pm 15,34542 dan perlakuan dengan pemberian vitamin C 6,8925 \pm 6,3252. Penurunan nilai $t^{1/2}$ eliminasi natrium diklofenak di atas menunjukkan bahwa natrium diklofenak yang berada dalam tubuh menjadi lebih kecil setelah pemberian vitamin C.

4. CONCLUSION

Pemberiaan tanpa vitamin c 50 mg/kg BB selama 7 hari berturut-turut pada hewan coba tikus nilai Ae^∞ dari Natrium diklofenak menurun dengan tidak bermakna (p>0,05) dibanding dengan kelompok perlakuan dengan vitamin C, dimana nilai K_{el} dan K_m meningkat dengan bermakna (p<0,05) dan pada nilai K_u , F_{el} . Dan $t^{1/2}$ menurun dengan tidak bermakna (p>0,05). Pemberiaan vitamin c 50 mg/kg BB selama 7 hari berturut-turut, mempengaruhi aktifitas metabolisme dan ekskresi, dimana K_m dan K_{el} meningkat secara bermakna (p<0,05).

REFERENCES

- Alioth, C., Blum, R.A., D'Andrea, D.T., Kochak, G.M., Teng, L., Ziehmer, B.A., Schentag, J.J., Chan, K.K.H. (1993). *Application of Dual Radiotelemetric*.
- Anggreini, Y., Hendrad, E., Purwanti.T. (2012). Karakteristik Sediaan dari Pelepasan Natrium Diklofenak dalam Sistem Niosom dengan Basic Gel Carbomer 940. *Pharma Scientia*.1(1):1-2.
- Clarke, E.G.C. (2004). *Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceutical*. Vol. II Third Edition. London. *The Pharmaceutical*. Page 1289.
- Emami, J., Ghassami, N., dan Talari, R. (2007). *A Rapid and Sensitive Modified HPLC Method for Determination of Diclofenac in Human Plasma and its Application in Pharmacokinetic Studies*. *Daru*. 15(3): 132-136.
- Ghaniswara . (2007). *Farmakologi dan Terapi*. Edisi kelima. Jakarta: Departemen farmakologi dan Toksikologi Fakultas Kedokteran Indonesia. Hal. 231-232.

- Ghiretti, F and Magaldi, A. G. (1977). *The Effect of Vitamin C on Intracellular Oxygen Transport*. Irtand. J. Vet Nutr. Res. Page 41-51.
- Khaskeli, A. R; sirahuddin; Abro, Kamran; Sherazi, S.T.,H; Afriadi, h.I et.al. (2009). *Simpler and faster Spectrophotometric Determination of Diklofenak Sodium in Tablets, Serum and Urin Samplee*. J. Anal Environ Chem. Vol 10, No. 1&2. Page. 53-58.
- Tjay, T. H., dan Raharja, K. (2007). *Obat-obat Penting Khasiat, penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi Kelima. Jakarta: Elex Media Kompetindo. Hal. 330, 332, 855.
- Yilmaz, B., Asci, A., dan Palabiyik, S.S. (2011). HPLC Method for Determination of Diclofenac in Human Plasma and its Application to a Pharmacokinetic Study in Turkey. *Journal Of Chromatographic Science*. (49): 422-426.
- Zannoni, V. G and Sato, p. H. (1975). *Effecr Asorbic Acid on Microsomal Drug metabolism*. Ann, N. Y. Acad. Sci. Page 118-131, 258.

