

## KINETIKA PERMEASI KLOTRIMAZOL DARI MATRIKS BASIS KRIM YANG MENGANDUNG *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO)

Henny Lucida, Patihul Husni dan Vinny Hosiana  
Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang

### ABSTRACT

A kinetic study on the release of clotrimazole from a VCO containing creambase has been undertaken. The in-vitro release of the drug was studied by using a modification diffusion cell apparatus. Four formulations of clotrimazole cream were prepared, each contained either VCO or paraffin liquidum in the cream base. The amount of clotrimazole release were determined by UV spectrophotometer. Results showed that release of clotrimazole from all formulations followed *Higuchi* kinetics, the release rate constant from F1 (containing VCO) was significantly different than that from F1' (containing paraffin liquidum) ( $p < 0.05$ ). The rate constant of clotrimazole from F2 (containing VCO); F2' (containing paraffin liquidum) and F1 were not significantly different. Virgin coconut oil (VCO) was a potential cream base matrix regarding the release profile of clotrimazole from the matrix.

**Keywords :** *clotrimazol, VCO, permeation kinetic*

### PENDAHULUAN

Minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil* atau VCO) merupakan produk olahan asli Indonesia yang mulai banyak digunakan untuk meningkatkan kesehatan masyarakat. VCO memberikan tekstur yang halus dan lembut pada kulit, membantu menjaga jaringan konektif agar tetap kuat dan longgar sehingga kulit tidak kendur dan keriput, melembutkan kulit yang kering dan kasar, mampu menghilangkan sel-sel kulit mati dan memperkuat jaringan kulit, membantu proses penyembuhan dan perbaikan kulit yang rusak. Selain itu VCO mudah diserap karena sekitar 80% asam lemak jenuh di dalam VCO adalah asam lemak rantai pendek dan rantai sedang yang molekulnya berukuran kecil sehingga dapat diserap ke dalam sel-sel tubuh dengan mudah, tanpa memerlukan berbagai enzim untuk memutuskan ikatannya<sup>[1, 2]</sup>.

VCO mengandung 92% asam lemak jenuh yang terdiri dari 48% - 53% asam laurat (C12), 1,5 - 2,5% asam oleat dan asam lemak lainnya seperti 8% asam kaprilat (C:8) dan 7% asam kaprat (C:10)<sup>[3]</sup>. Kandungan asam lemak (terutama asam laurat dan oleat) dalam VCO, sifatnya yang melembutkan kulit serta

ketersediaan VCO yang melimpah di Indonesia membuatnya berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pembawa sediaan obat, diantaranya sebagai basis krim.

Berdasarkan manfaat VCO terhadap kulit, penggunaannya sebagai basis krim obat-obat penyakit kulit diharapkan dapat meningkatkan efektifitas kerja obat sehingga dapat mempercepat penyembuhan. Namun, di sisi lain VCO sebagai basis krim dapat pula bersifat sebagai matriks (barrier) bagi permeasi obat mencapai kulit untuk memberikan efek farmakologis.

Terkait hal ini, maka suatu studi tentang pengaruh VCO di dalam basis krim terhadap permeasi zat aktif perlu dilakukan. Tulisan ini menampilkan data eksperimental tentang kinetika permeasi suatu obat antijamur (klotrimazol) dari basis krim yang mengandung VCO dibandingkan terhadap basis krim tanpa VCO. Dibuat empat basis krim yang berbeda untuk menentukan apakah metoda pembentukan krim dan ada tidaknya VCO dalam basis berpengaruh terhadap kinetika permeasi klotrimazol dari basis krim.

## METODOLOGI

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain: timbangan analitik (Denver Instrument®), mikroskop dengan mikrometer, pH meter E-520 (Metrohm Herisau®), hot plate 502 series (PMC®), spektrofotometer UV (Shimadzu UV-1700), seperangkat alat uji permeasi berupa sel difusi yang terdiri dari pot salep dan membran selulosa whatman® No. 42 (diameter pori 2,5 µm) sebagai membran semipermeabel dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan yang digunakan antara lain : VCO (Bio Virco Phytomega®), klotrimazol micronized (courtesy PT. Kalbe Farma), dapar fosfat pH 7, β-cyclodextrin (Merck), span 60, tween 60, asam stearat, trietanolamin, natrium lauril sulfat, setostearil alkohol, cera alba, cetaceum, boraks, gliserol, air suling, etanol 95%, kloroform dan reagensia untuk pemeriksaan bilangan kimia VCO. Semua bahan kecuali VCO adalah *pharmaceutical grade*.

### Pembuatan Formula Basis Krim

#### Cara Pembuatan Basis Krim

Untuk F1 dan F1', VCO, asam stearat dan cetaceum dilebur dalam cawan penguap di atas penangas air pada suhu 70°C (massa 1). TEA, boraks dan air suling dimasukkan dalam cawan penguap, dipanaskan di atas penangas air pada suhu 70°C (massa 2). Pada suhu yang

sama massa 1 dan massa 2 dicampurkan dalam lumpang panas dan diaduk terus sampai terbentuk massa krim yang homogen. Gliserol yang sudah ditambahkan air sama banyak dimasukkan ke massa krim yang sudah jadi dan diaduk homogen.

Untuk F2 dan F2', VCO dan span 60 dilebur dalam cawan penguap, dipanaskan di atas penangas air pada suhu 70°C (massa 1). Tween 60 dan larutan dapar pH 7 dimasukkan dalam cawan penguap, dipanaskan di atas penangas air pada suhu 70°C (massa 2). Pada suhu yang sama massa 1 dan massa 2 dicampurkan dalam lumpang panas dan diaduk terus sampai terbentuk massa krim yang homogen.

### Pembuatan Krim Klotrimazol

Dibuat 100 g krim masing-masing formula basis dengan komposisi; klotrimazol 1% dan basis krim 100 g. Selanjutnya, formula 1 dan formula 2 disingkat berturut-turut dengan F1 dan F2. Sediaan krim klotrimazol kemudian dievaluasi sesuai Farmakope Indonesia IV.

### Uji Daya Permeasi Krim Klotrimazol

#### Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Klotrimazol dalam Larutan β-Cyclodextrin 1:2 Molar<sup>[5,6]</sup>

Sejumlah 30 mg klotrimazol dilarutkan dalam 100 mL air suling yang mengandung 197,4 mg β-cyclodextrin sehingga diperoleh konsentrasi klotrimazol 0,3 mg/mL.

**Tabel 1. Formula Basis Krim**

Bahan (g)	F1(%)	F1'(%)	F2(%)	F2'(%)
VCO	40	-	40	-
Parafin cair	-	40	-	40
Asam stearat	6,4	6,4	-	-
Trietanolamin (TEA)	0,8	0,8	-	-
Cetaceum	6,5	6,5	-	-
Cera alba	2,5	2,5	-	-
Boraks	0,8	0,8	-	-
Gliserol	1	1	-	-
Tween 60	-	-	10,8	14,3
Span 60	-	-	9,2	5,7
Air suling* sampai	100	100	100	100

\*Untuk F2 dan F2' air suling diganti dengan dapar fosfat pH 7 dan komposisi emulgator yang dipakai dihitung dari nilai HLB (*Hydrophyl Lipophyl Balance*) butuh VCO<sup>[4]</sup>

Larutan tersebut dipipet 5 mL lalu ditambahkan 5 mL etanol 96% dan diukur panjang gelombang serapan maksimumnya dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 200-400 nm.

#### *Pembuatan Kurva Kalibrasi Klotrimazol dalam Larutan $\beta$ -Cyclodextrin 1:2 Molar.*

Dibuat suatu seri larutan klotrimazol di dalam larutan  $\beta$ -cyclodextrin 1:2 molar yaitu berturut-turut 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mg/mL. Selanjutnya dipipet 5 mL larutan tersebut dan ditambahkan 5 mL etanol 96%. Serapan zat dari masing-masing konsentrasi di atas diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum. Kurva kalibrasi dibuat dengan menghubungkan konsentrasi dengan serapan klotrimazol.

#### *Uji Pengaruh VCO terhadap Kinetika Permeasi Klotrimazol dari Basis Krim<sup>[7]</sup>*

Metoda yang digunakan adalah modifikasi dari metoda permeasi zat aktif pada literatur<sup>[6]</sup>. Sel difusi terdiri dari pot salep dan membran selulosa Whatman<sup>®</sup> sebagai membran semipermeabel. Krim seberat 2,5 g ditempatkan di atas membran selulosa Whatman<sup>®</sup> yang sebelumnya telah dibasahi dengan larutan  $\beta$ -cyclodextrin 1:2 molar. Kemudian membran yang di atasnya ada krim diikatkan pada ujung pot salep dengan menggunakan benang wool yang telah dibasahi dengan larutan medium. Ikat dengan kuat dan hati-hati untuk mencegah timbulnya kerutan pada permukaan dan terbentuknya gelembung udara saat dicelupkan ke dalam *beaker glass* yang berisi larutan  $\beta$ -cyclodextrin 1:2 molar.

Sel difusi kemudian dicelupkan ke dalam *beaker glass* yang berisi 100 mL larutan  $\beta$ -cyclodextrin 1:2 molar dengan permukaan pot salep menghadap ke bawah. Jika sel difusi telah siap pada posisinya, pengaduk magnetik dihidupkan dengan kecepatan 100 rpm atau skala 6 pada alat dan suhu diatur  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Pada interval waktu tertentu (5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75, 90 dan 105 menit), 5 mL larutan yang ada dalam *beaker glass* diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. 5 mL etanol 96% ditambahkan untuk menyamakan perlakuan saat pembuatan kurva kalibrasi. Tiap 5 mL larutan yang diambil dari *beaker glass* diganti dengan larutan  $\beta$ -cyclodextrin 1:2 molar sebanyak 5 mL. Selanjutnya serapan larutan sampel diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang serapan maksimum.

#### **Pengolahan Data**

Data berupa jumlah klotrimazol yang berpermeasi persatuan waktu diolah menggunakan beberapa model matematis yaitu:

- Persamaan Higuchi :

$$M_t = K_H \cdot t^{0,5}$$

$M_t$  = jumlah klotrimazol berpenetrasi pada waktu  $t$

$K_H$  = konstanta laju penetrasi menurut Higuchi

- Persamaan kinetika orde nol:

$$M_t = M_0 + K_0 \cdot t$$

$M_0$  = jumlah klotrimazol berpenetrasi pada waktu 0

$K_0$  = konstanta laju penetrasi menurut orde 0

- Persamaan kinetika orde satu:

$$\log M_t = \log M_0 + \frac{\log K_1}{2.303} \cdot t$$

$K_1$  = konstanta laju penetrasi menurut orde 1

Jumlah klotrimazol yang berpermeasi pada waktu tertentu diuji dengan uji proporsi dua sampel (uji *Chi-Square*) untuk melihat pengaruh basis dan efisiensi permeasi klotrimazol. Kemudian dibandingkan dengan sediaan yang tidak mengandung VCO.

Sebagai konfirmasi, dihitung nilai efisiensi permeasi klotrimazol dari masing-masing sediaan dengan rumus di bawah ini.

$$\text{Efisiensi liberasi/permeasi} \left( \frac{EL}{EP} \right) = \frac{\text{luas daerah di bawah kurva}}{\text{daerah segiempat}} \times 100\%$$

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Krim merupakan emulsi antara fase minyak dan fase air. Di dalam basis krim, VCO merupakan fase minyak yang akan diemulsikan dengan emulgator untuk membentuk matriks krim yang stabil secara fisika. Fase minyak cair yang banyak digunakan dalam pembuatan krim adalah parafin cair. Pada penelitian ini, pengaruh matriks basis mengandung VCO terhadap profil permeasi klotrimazol dibandingkan terhadap matriks basis tanpa VCO (mengandung parafin cair). Konsentrasi VCO yang digunakan dalam pembuatan krim adalah 40% karena hasil orientasi menunjukkan bahwa ini adalah komposisi terbaik.

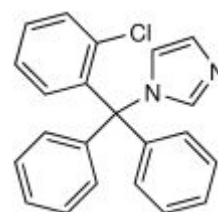
Klotrimazol (Gambar 1) merupakan senyawa antijamur spektrum luas yang ampuh mengobati penyakit kulit yang disebabkan oleh jamur. Bersifat basa lemah, lipofilik dan praktis tidak larut dalam air (kelarutan dalam air = 0,49 mg/mL). Klotrimazol membentuk kompleks inklusi 1:2 dengan  $\beta$ -cyclodextrin yang dapat meningkatkan kelarutannya dalam air sehingga memungkinkan analisis kuantitatifnya dalam jumlah kecil dapat dilakukan<sup>[5,6]</sup>. Untuk obat-obat antijamur yang harus digunakan dalam waktu lebih lama dari antibakteri, maka formula krim yang ideal adalah yang dapat menjamin jumlah dan laju obat yang terbebas atau yang berpermeasi melewati matriks basis menuju kulit yang paling besar. Laju lepasnya bahan obat dari matriks basis (permeasi) berkaitan erat dengan lipofilisitas senyawa obat dan tipe atau jenis matriks yang dilewatinya.

Matriks basis F1 dan F1' terbentuk dari reaksi penyabunan, sedangkan basis F2 dan F2' terbentuk dari emulsifikasi fase minyak oleh tween 60 dan span 60 yang di dalam air. Secara fisik, matriks basis emulsifikasi

menghasilkan krim yang lebih encer daripada matriks hasil penyabunan. Hasil evaluasi krim (Tabel 2) menunjukkan semua formula krim stabil secara fisika dan memenuhi kriteria krim yang baik<sup>[8]</sup>.

Hasil penentuan panjang gelombang serapan maksimum klotrimazol dalam larutan  $\beta$ -cyclodextrin adalah 260,8 nm. Validasi metoda spektrofotometri klotrimazol pada panjang gelombang serapan maksimum menunjukkan linearitas yang baik ( $y = 1,07x - 0,049$ ;  $R^2 = 0,992$ ) dengan batas deteksi (BD) sebesar  $0,0109$  mg/mL dan batas kuantitasi (BK)  $0,0094$  mg/mL (Gambar 2).

Sebelum menimbulkan efek pada kulit, suatu obat akan mengalami liberasi/permeasi terlebih dahulu dari basis krim. Proses ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain oleh konsentrasi, koefisien partisi dan afinitas klotrimazol terhadap matriks basis krim. Makin tinggi nilai koefisien partisi ( $C^0_w$ ) senyawa obat, makin besar afinitasnya terhadap basis krim berminyak sehingga sulit terlepas dari basis. Afinitas suatu zat adalah kemampuan suatu zat tersebut berikatan dengan pembawa. Zat yang mempunyai afinitas kecil dengan pembawa akan lebih banyak mengalami liberasi/permeasi dibandingkan dengan zat yang mempunyai afinitas besar<sup>[9]</sup>.



Gambar 1. Struktur kimia klotrimazol

Tabel 2. Hasil Evaluasi Krim Klotrimoksazol

No.	Parameter yang diamati	F1 dan F1'	F2 dan F2'
1.	Tipe krim	Air dalam minyak	Minyak dalam air
2.	Daya tercuci krim	20 mL	10 mL
3.	Uji daya iritasi	Negatif	Negatif
4.	pH krim	7,15	6,45
5.	Kadar klotrimazol	99,53%	107,94%

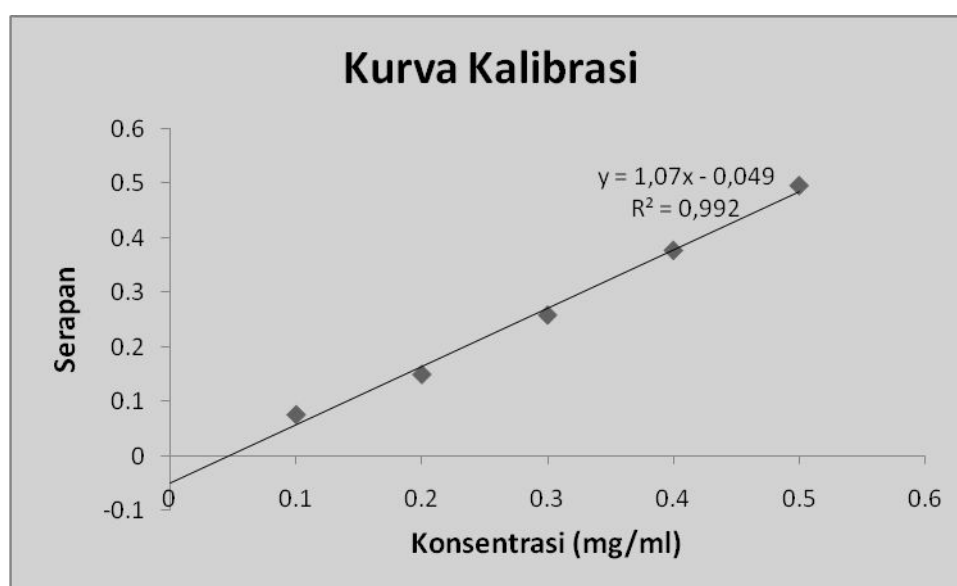
Permeasi obat dari basis krim berlangsung secara difusi pasif. Menurut hukum difusi *Ficks*, derajat kelarutan obat dalam lemak akan mempengaruhi laju absorpsi obat dalam minyak-air. Klotrimazol memiliki koefisien partisi oktanol/air yang tinggi<sup>[10]</sup>. Koefisien partisi minyak-air yang tidak tepat (terlalu tinggi) menyebabkan turunnya konsentrasi obat dalam fase air pada sistem terdispersi seperti emulsi dan krim yang menyebabkan aktivitasnya sangat ditentukan oleh kemampuannya untuk berpermeasi dari basis.

Hasil uji permeasi krim klotrimazol menunjukkan bahwa permeasi klotrimazol dari basis krim F2 lebih besar dibanding formula lainnya (Tabel 3). Namun analisa statistika data jumlah klotrimazol berpermeasi setelah 105 menit, menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna jumlah obat berpermeasi dari F2, F1 dan F2' ( $p > 0,05$ ). Selanjutnya perlu ditentukan profil kinetika permeasi untuk melihat pengaruh basis krim terhadap laju permeasi klotrimazol.

Pengolahan data kinetika dilakukan menurut orde nol, orde satu dan *Higuchi* (Tabel 4). Kinetika orde nol menggambarkan bahwa permeasi berlangsung dengan laju konstan, kinetika orde satu menggambarkan bahwa laju permeasi berkurang secara eksponensial sebanding dengan jumlah obat yang tersisa sedangkan kinetika menurut *Higuchi* menggambarkan bahwa laju pelepasan obat

terjadi secara difusi pasif menurut hukum difusi *Ficks*<sup>[9]</sup>. Profil kinetika permeasi klotrimazol dari krim lebih mengikuti kinetika *Higuchi* (Tabel 4 dan Gambar 3). Nilai konstanta laju liberasi/permeasi klotrimazol dari masing-masing formula diperoleh dari kemiringan garis regresi linier antara jumlah berpermeasi terhadap akar waktu. Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa laju permeasi klotrimazol dari F2 > F1 > F2' > F1'.

Data profil dan laju permeasi klotrimazol dari F1 dan F1' (krim tipe a/m); F2 dan F2' (krim tipe m/a) menunjukkan bahwa laju permeasi obat dari basis yang mengandung VCO (F1 dan F2) lebih besar dari pada basis yang mengandung parafin cair (F1' dan F2'). Dan laju permeasi dari tipe basis emulsifikasi lebih besar dari pada tipe saponifikasi. Dalam hal permeasi zat aktif, perbedaan tipe krim berkaitan dengan afinitas zat aktif terhadap basis. Zat yang bersifat lipofilik akan memiliki afinitas yang lebih besar terhadap basis tipe air dalam minyak sehingga sukar untuk lepas dari basis dan selanjutnya lambat berpenetrasi, dan sebaliknya untuk zat yang hidrofil. Klotrimazol (Gambar 1) bersifat lipofilik, secara teoritis akan memiliki afinitas yang lebih kecil terhadap basis krim tipe minyak dalam air sehingga akan lebih mudah lepas dari basis dan berpermeasi. Data laju permeasi mendukung teori ini, klotrimazol pada F2 (krim tipe m/a) lebih mudah berpermeasi dari pada F1 (krim tipe a/m).



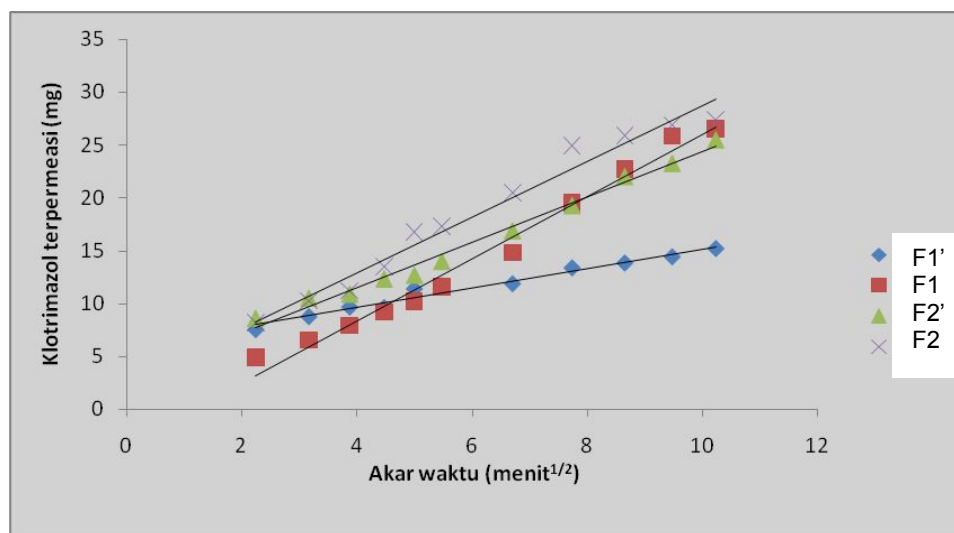
**Gambar 2.** Kurva kalibrasi klotrimazol dalam larutan  $\beta$ -cyclodextrin 1:2 Molar

**Tabel 3. Jumlah Klotrimazol Terpermeasi dari Basis Krim per Satuan Waktu**

Waktu (menit)	Klotrimazol terpermeasi (mg)			
	F1	F1'	F2	F2'
5	4,8600	7,5700	8,1300	8,6000
10	6,5030	8,7885	10,2165	10,5200
15	7,8952	9,6894	11,1608	10,8960
20	9,1848	9,6445	13,4580	12,3248
25	10,1792	11,4122	16,7429	12,6762
30	11,5390	11,6906	17,2871	13,9938
45	14,7870	11,8945	20,4944	16,8697
60	19,5294	13,3947	24,9547	19,2535
75	22,6565	13,8497	25,9177	21,9927
90	25,8028	14,4325	26,9059	23,2496
105	26,5201	15,2116	27,4153	25,4625

**Tabel 4. Data Konstanta Laju Permeasi Klotrimazol dari Masing-masing Formula Krim Diolah Menurut Kinetika Orde Nol, Orde Satu dan Persamaan Higuchi dan Koefisien Korelasi dari Profil Penetrasinya**

Sediaan	Orde nol		Orde satu		Higuchi	
	$K_0$	r	$K_1$ (menit <sup>-1</sup> )	r	$K_H$ mg/det <sup>1/2</sup>	r
F1	0,2287	0,9936	0,0071	0,9583	2,9290	0,9914
F1'	0,0689	0,9540	0,0026	0,9233	0,9129	0,9846
F2	0,1996	0,9553	0,0050	0,9119	3,0787	0,9582
F2'	0,1667	0,9949	0,0045	0,9743	2,1383	0,9942



**Gambar 3.** Kurva jumlah klotrimazol terpermeasi per satuan waktu yang diolah menurut persamaan Higuchi

Data hasil uji permeasi diolah secara statistik dengan menggunakan analisis uji proporsi dua sampel (uji *Chi-Square*) dapat dilihat apakah perbedaan formula dan waktu pada masing-masing formula akan memberikan perbedaan efek yang berarti atau tidak terhadap permeasi

klotrimazol dalam krim. Hasil menunjukkan pada pengujian F1 dengan F1' diketahui bahwa kedua formula berbeda nyata atau persentase klotrimazol yang terpermeasi pada kedua formula berbeda nyata karena  $X^2_{hitung} > X^2_{tabel}$  ( $p < 0,05$ ). Sebaliknya, pada

pengujian F2 dengan F2' serta pada pengujian F1 dengan F2 didapatkan hasil kedua formula tidak berbeda nyata atau persentase klotrimazol yang terpermeasi pada kedua formula tidak berbeda nyata karena  $X^2_{hitung} < X^2_{tabel}$  ( $p > 0,05$ ).

Parameter lain yang digunakan untuk evaluasi liberasi/permeasi secara *in vitro* yang dikenalkan oleh Khan dan Rhodes adalah efisiensi liberasi/permeasi. Efisiensi liberasi/permeasi adalah luas daerah di bawah kurva liberasi/permeasi pada waktu tertentu (t), digambarkan sebagai persentase daerah segi empat yang menggambarkan liberasi/permeasi 100% pada waktu yang sama<sup>[10]</sup>.

Efisiensi liberasi/permeasi ini lebih bermakna dibanding t 90% dari suatu formula untuk menjamin bahwa pola liberasi lebih terukur. Dalam hal efisiensi permeasinya, efisiensi permeasi F2 (81,1729%) lebih besar daripada efisiensi permeasi F1 (66,1686%) dan sediaan perbandingan yang tidak mengandung VCO (68,7593%) setelah diuji secara statistik ( $p > 0,05$ ).

## KESIMPULAN

Laju permeasi klotrimazol dari sediaan krim mengikuti kinetika Higuchi. Laju permeasi dari F1 (mengandung VCO) berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan F1' (tidak mengandung VCO). Sedangkan laju permeasi F2 (mengandung VCO) dengan F2' (tidak mengandung VCO) dan F1 (mengandung VCO) dengan F2 (mengandung VCO) tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ). Efisiensi permeasi pada F1' (47,6640%), F1 (66,1686%), F2' (68,7593%) dan F2 (81,1729%) tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ). VCO berpotensi untuk dikembangkan sebagai matriks basis krim jika dilihat dari permeasi zat aktif dari basisnya.

## DAFTAR PUSTAKA

1. M. G. Enig, *The Health Benefits of Coconuts & Coconut Oil*, [www.nexusmagazine.com](http://www.nexusmagazine.com), 2002.
2. A. L. Agero and V. M. Verallero-Rowell, A randomized double-blind controlled trial comparing extra virgin coconut oil as a moisturizer for mild to moderate xerosis, *Dermatitis*, 15(3): 109-116, (2004).
3. A. N. Alam Syah, *Virgin Coconut Oil Minyak Penakluk Aneka Penyakit*, AgroMedia Pustaka, Jakarta, 2005.
4. H. Lucida, R. Nasrul dan A. Suryaman, Penentuan Nilai HLB Butuh Virgin Coconut Oil (VCO), *Jurnal Ilmiah Eksakta FAKTA*, 3(2): 63 – 67, (2006).
5. E. Bilensoy, M. A. Rouf, I. Vural, M. Sen, A. A. Hincal, Mucoadhesive, Thermosensitive, Prolonged-Release Vaginal Gel for Clotrimazole :  $\beta$ -Cyclodextrin Complex, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 7(2) article 38, (2006).
6. B. Prabagar, *et. al.*, Enhanced Bioavailability of Poorly Water-soluble Clotrimazole by Inclusion with  $\beta$ -cyclodextrin, *Arch Pharm Res.*, 30(2): 249-254, (2007).
7. N. F. Billups, & N. K. Patel, Experiment in physical pharmacy, Invitro Release of Medicament From Ointment Bases, *J. Pharm, Educ.*, 34, (1970)
8. Badan Pengawasan Obat dan Makanan, *Farmakope Indonesia*, edisi IV, Departemen Kesehatan RI, 1995.
9. H. M. Abdou, *Dissolution, Bioavailability & Bioequivalence*, Mack Publishing Company, Pennsylvania, 1989.
10. *Therapeutic Drugs*, Edited by Sir Colin Dollery, Volume I, Churchill Livingstone Edinburgh, London, Melbourne New York, Tokyo and Madrid, 1991.