

Research Article

The Ethanol Extract of Neem Leaf (Azadirachta Indica A. Juss) Effect towards Wound Healing in Male Swiss Webster Mice

Hillary L Mustamu^{*}, Endang Evacuasiany^{**}, Laella K Liana^{}***

^{}Faculty of Medicine Maranatha Christian University*

*^{**}Department of Pharmacology Faculty of Medicine Maranatha Christian University*

*^{***}Department of Anatomical Pathology Faculty of Medicine
Maranatha Christian University*

Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Email: hillleonly@gmail.com

Abstract

Leaves of Azadirachta indica A. Juss contain a chemical compound that actively accelerates wound healing. We examined the effect of Ethanol Extract of Neem Leaf (EENL) in accelerating wound healing and compared its potential with povidone iodine. This was an analytic experimental study, using Complete Randomized Design (CRD) with a comparative method. We used 30 male Swiss Webster mice that were divided into five groups (n=6). Each group was given the Ethanol Extract of Neem Leaf (EENL) with a concentration of 25%, 12.5% and 25%, aquades (negative control) and povidone iodine 10% (comparison). The average wound healing time of EENL 25%, EENL 12.5% , EENL 6.25% , povidone iodine and aquades were 11.2; 12.2;13.2;13.2;and 1.3 days respectively. The data was analized with one way ANOVA and showed a highly significant difference of $p=0.000$. Tukey HSD test showed that EENL 25% and 12.5% had better potential than povidone iodine 10% and EENL 6.25% had the same potential with povidone iodine 10%. This study concludes that ethanol extract of neem leaf has an effect in accelerating the duration of wound healing, with EENL 25% as the best concentration in accelerating the duration of wound healing.

Keywords: *neem leaf, Azadirachta indica A. Juss, wound healing, Swiss Webster mice*

Research Article

Efek Berbagai Dosis Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss) terhadap Penyembuhan Luka Insisi pada Mencit Swiss Webster Jantan

Hillary L Mustamu^{*}, Endang Evacuasiyany^{**}, Laella K Liana^{***}

^{*} Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

^{**} Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

^{***} Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Email: hilleonly@gmail.com

Abstrak

Daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) mengandung berbagai senyawa aktif dan kandungan kimia yang berkhasiat untuk mempercepat penyembuhan luka. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek Ekstrak Etanol Daun Mimba (EEDM) dalam mempercepat penyembuhan luka dan menilai potensinya bila dibandingkan dengan *povidone iodine*. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik sungguhan, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan bersifat komparatif. Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit Swiss Webster jantan yang dibagi dalam lima kelompok (n=6) yaitu EEDM dengan konsentrasi 25%, 12,5% dan 6,25%, akuades (kontrol negatif) dan *povidone iodine* 10% (pembanding). Rerata lama penyembuhan luka (hari) yang didapatkan EEDM 25%, 12,5% , 6,25% , *povidone iodine* dan akuades adalah 11,2; 12,2;13,2;13,2;dan 1,3 hari secara berurutan. Data dianalisis dengan *one way ANOVA*, EEDM menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Dengan uji Tukey HSD menunjukan bahwa kelompok EEDM 25% dan 12,5% lebih baik dibandingkan dengan *povidone iodine* 10% dan kelompok EEDM 6,25% sebanding dengan *povidone iodine* 10%. Ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) berefek mempercepat penyembuhan luka dan konsentrasi 25% merupakan konsentrasi yang terbaik.

Kata kunci: daun mimba, *Azadirachta indica* A. Juss, penyembuhan luka, mencit Swiss Webster

Research Article

Pendahuluan

Luka adalah hilangnya atau rusaknya sebagian jaringan tubuh atau rusaknya kesatuan/komponen jaringan, di mana secara spesifik terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang. Luka dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan. Ketika terjadi luka, ada beberapa keadaan yang akan muncul di antaranya hilangnya seluruh atau sebagian fungsi organ, respon stres simpatis, perdarahan dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri dan kematian sel.^{1,2}

Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks dan dinamis untuk mengembalikan struktur sel dan jaringan. Proses penyembuhan luka terdiri dari 4 fase yang saling berhubungan satu dan lainnya : fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodelling* atau resolusi.³

Luka yang paling sering terjadi dalam kehidupan sehari-hari adalah luka yang mengenai jaringan kulit misalnya luka lecet (ekskoriasi) dan luka iris (skisum). Studi di Inggris menunjukkan prevalensi pasien dengan luka adalah 3,55 per 1000 penduduk. Mayoritas luka yang terjadi adalah luka pembedahan atau trauma (48%), luka tungkai atau kaki (28%) dan ulkus dekubitus (21%). Prevalensi luka di antara pasien rawat inap di rumah sakit adalah 30,7%. Berdasarkan survei yang dilakukan pada tahun 2004, prevalensi luka akibat RTA (*Road Transportation Accident*) di Indonesia pada populasi yang berumur ≥ 15 tahun adalah 1,02%, sedangkan luka akibat non-RTA (keracunan, tenggelam, jatuh, dan lain-lain) pada populasi usia ≥ 15 tahun adalah 0,4%. Di Amerika Serikat pada tahun 2005, 173.723 orang meninggal akibat luka dan kecelakaan akibat kendaraan bermotor dapat menyebabkan luka yang fatal sebanyak 37,1% dan menunjukkan 43.667 kematian.^{4,5,6}

Usaha yang dilakukan untuk menyembuhkan luka bermacam-macam, mulai dari mencuci luka sampai pemberian obat antiseptik. Secara farmakologis, obat antiseptik yang sering digunakan untuk penyembuhan luka adalah *povidone iodine*. Masyarakat sering menggunakan *povidone iodine* untuk mengobati luka sehari-hari, tetapi *povidone iodine* memiliki pengaruh yang kurang signifikan terhadap penurunan kolonisasi bakteri pada luka yang terkontaminasi. Terdapat beberapa efek samping sistemik dari *povidone iodine* yang memberikan komplikasi lebih lanjut seperti reaksi hipersensitivitas kulit misalnya *rash*, gatal, pembengkakan pada wajah juga menimbulkan rasa gelisah, depresi dan *myxoedema*.⁷

Selain menggunakan obat-obatan antiseptik, penanganan luka juga dapat menggunakan pengobatan secara tradisional dengan menggunakan tumbuh-tumbuhan yang berkhasiat untuk menyembuhkan luka. Salah satu tumbuhan yang berkhasiat untuk menyembuhkan luka adalah daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss). Daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) digunakan

Research Article

dalam pengobatan Ayurvedic lebih dari 4000 tahun dan mempunyai kandungan paraisin, alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan komponen-komponen minyak atsiri yang mengandung senyawa sulfida. Daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) memiliki efek antiinflamasi, antibakterial, antifungal dan antioksidan.⁸

Tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss), terutama biji dan daunnya mengandung beberapa komponen hasil produksi metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, azadirachtin, salanin, meliantriol, nimbin dan nimbidin yang diduga sangat bermanfaat, baik dalam bidang pertanian (pestisida dan pupuk), maupun farmasi (kosmetik dan obat-obatan).^{8,9}

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Purohit *et al* dengan menggunakan ekstrak etanol daun mimba dalam *ointment* dapat mempercepat penyembuhan luka pada tikus albino jantan galur Wistar. Penelitian dilakukan selama 15 hari dan diperiksa pada hari ke 3, 6, 9, 12 dan 15. Hasil yang didapatkan pada hari ke-15 yaitu pada kelompok kontrol $52,58 \pm 1,66$, pada kelompok standar yang diberi povidone iodine dalam bentuk sediaan *ointment* $6,08 \pm 1,56$ dan pada kelompok yang diberi ekstrak etanol daun mimba dalam bentuk *ointment* $0,00 \pm 0,00$.¹⁰

Kandungan flavonoid, alkaloid dan tannin dalam daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan motilitas bakteri, merusak membran sel bakteri sehingga sel bakteri akan lisis (koagulator protein) terutama dalam proses *remodelling* serta menghambat pertumbuhan fibroblast sehingga perawatan luka akan lebih mudah. Selain itu, tannin berfungsi sebagai adstringen yang dapat menyebabkan penciutan pori-pori kulit, memperkeras kulit, menghentikan eksudat dan pendarahan yang ringan, sehingga mampu menutupi luka dan mencegah pendarahan yang biasanya timbul. Selain itu, saponin merupakan antimikroba dan memiliki kemampuan sebagai pembersih dan antiseptik sehingga luka tidak mengalami infeksi berat dan saponin memiliki tingkat toksisitas yang tinggi terhadap fungi dan meningkatkan kandungan kolagen serta mempercepat proses epitalisasi sehingga proses penyembuhan luka akan lebih cepat.¹¹

Dengan demikian perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek ekstrak daun mimba penyembuhan luka dan menilai potensinya bila dibandingkan dengan *povidone iodine* 10%. Diharapkan melalui penelitian ini akan menambah wawasan dan pengetahuan farmakologi tanaman obat tradisional terutama ekstrak daun mimba untuk mempercepat waktu penyembuhan luka dan untuk memberikan informasi kepada masyarakat luas tentang ekstrak daun mimba yang dapat mempercepat penyembuhan luka dan perbandingan potensinya sehingga dapat digunakan sebagai obat alternatif untuk penyembuhan luka.

Research Article

Metode

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik sungguhan, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), bersifat komparatif. Data yang diambil adalah rata-rata hari yang dibutuhkan oleh setiap kelompok mencit untuk menutup lukanya dengan sempurna yang ditandai dengan saling bertautnya tepi luka. Analisis data menggunakan uji *one way* ANOVA dilanjutkan dengan uji beda rata-rata Tukey HSD (*High Significant Difference*) dengan $\alpha = 0,05$ menggunakan program komputer. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung dari Februari 2015 sampai Agustus 2015.

Bahan baku yang digunakan adalah daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) diperoleh dari industri farmasi BNHI yang berlokasi di Semarang sebanyak 500 gram yang telah dipisahkan, dicuci, dan dikeringkan di dalam oven pada suhu $< 60^{\circ}\text{C}$. Daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang telah kering dihancurkan, disaring, dimaserasi dengan etanol 70% dan diperkolasi dalam perkolator. Selanjutnya diuapkan dengan evaporator pada suhu $< 60^{\circ}\text{C}$, disterilisasi pada suhu $130^{\circ}\text{C} - 140^{\circ}\text{C}$ selama 4 detik, dikeringkan kembali pada suhu $< 40^{\circ}\text{C}$ menggunakan *vaccum belt dryer* sehingga didapatkan ekstrak kering. ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dilarutkan dalam akuades untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan. Ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dibuat menjadi konsentrasi 25%, 12,5% dan 6,25% menggunakan akuades dengan cara sebagai berikut:

- Konsentrasi 25 %
25 g ekstrak etanol daun mimba ditambahkan akuades hingga 100 ml.
- Konsentrasi 12,5 %
Diencerkan dari konsentrasi 25 %, diambil 30 ml filtrat ekstrak etanol daun mimba dan ditambahkan 30 ml akuades.
- Konsentrasi 6,25 %
Diencerkan dari konsentrasi 12,5 %, diambil 15 ml filtrat ekstrak etanol daun mimba dan ditambahkan 15 ml akuades.

Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit Swiss Webster Jantan berumur 8 minggu yang diadaptasi selama 7 hari dalam suasana laboratorium. Mencit tersebut dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yang diberi perlakuan akuades sebagai kontrol negatif (kelompok 1), *povidone iodine* 10% sebagai pembanding (kelompok 2), ekstrak etanol daun mimba

Research Article

konsentrasi 25% (kelompok 3), ekstrak etanol daun mimba konsentrasi 12,5% (kelompok 4) dan ekstrak etanol daun mimba konsentrasi 6,25% (kelompok 5).

Bulu pada *regio femoris dextra* lateral mencit dicukur dengan menggunakan gunting dan pisau cukur. Selanjutnya mencit dianestesi dengan menyuntikan ketamin *vial* secara intramuskular (IM). *Regio femoris dextra* lateral mencit yang telah dicukur dilakukan tindakan antiseptik dengan mengoleskan alkohol 70% kemudian dibuat goresan luka sayat sepanjang 8 mm dengan ketebalan 1 mm menggunakan pisau bedah steril. Darah yang keluar pada daerah yang dilukai dibersihkan dengan akuades dengan cara mengalirkan akuades pada daerah luka. Pada tiap kelompok dilakukan penanganan yang berbeda, yaitu :

- Kelompok I: luka sayat diberi akuades (kontrol negatif)
- Kelompok II: luka sayat diobati dengan menggunakan *povidone iodine* 10% secara topikal (pembanding)
- Kelompok III: luka sayat diobati dengan menggunakan ekstrak daun mimba 25% secara topikal
- Kelompok IV: luka sayat diobati dengan menggunakan ekstrak daun mimba 12,5% secara topikal
- Kelompok V: luka sayat diobati dengan menggunakan ekstrak daun mimba 6,25% secara topikal

Pemberian perlakuan terhadap luka sayat dilakukan secara topikal dengan menggunakan *cotton bud* satu kali setiap hari pada siang hari sampai kedua tepi luka saling bertautan. Luka yang mengalami proses penyembuhan diukur panjangnya dengan menggunakan jangka sorong dilakukan satu kali setiap hari pada semua mencit sampai kedua tepi luka saling bertautan.

Hasil

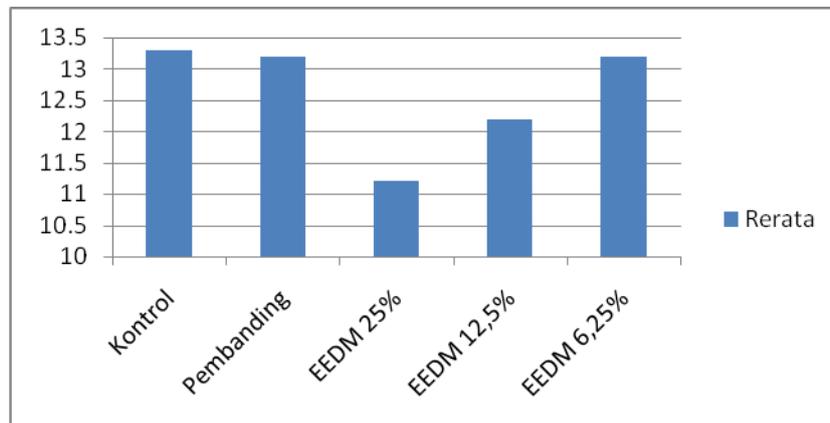
Penelitian untuk menilai perbandingan efek ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dan *povidone iodine* 10% terhadap penyembuhan luka pada mencit Swiss Webster jantan telah dilakukan dengan hasil penelitian dapat dilihat pada tabel 1.

Research Article

Tabel 1 Rerata Lama Penyembuhan Luka dalam Hari

Kelompok Mencit No	Kontrol Negatif	Pembanding	EEDM 25%	EEDM 12,5%	EEDM 6,25%
I	14	13	10	12	14
II	13	14	11	12	14
III	13	13	12	12	13
IV	13	13	11	12	13
V	13	13	11	13	13
VI	14	13	12	12	12

Keterangan :
 Kontrol negatif : kelompok akuades
 Pembanding : kelompok *povidone iodine* 10%
 EEDM 25% : kelompok ekstrak etanol daun mimba 25%
 EEDM 12,5% : kelompok ekstrak etanol daun mimba 12,5%
 EEDM 6,25% : kelompok ekstrak etanol daun mimba 6,25%



Gambar 1 Rerata Lama Penyembuhan Luka dalam Hari

Tabel 1 menunjukkan variasi lama penyembuhan luka yang berkisar antara 11 hari pada kelompok EEDM 25% dan 13 hari pada kelompok kontrol negatif (akuades). Pada diagram 1 menunjukkan rerata lama penyembuhan luka pada kelompok kontrol berkisar 13,3 hari, kelompok pembanding (*povidone iodine* 10%) berkisar 13,2 hari, kelompok EEDM 25% berkisar 11,2 hari, kelompok EEDM 12,5% berkisar 12,2 hari dan kelompok EEDM 6,25% berkisar 13,2 hari.

Perbedaan antara kelompok perlakuan diuji menggunakan metode *one way* ANOVA dan didapatkan nilai $p < 0,01$. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan lama penyembuhan luka yang sangat signifikan antara kelompok perlakuan. Untuk melihat kelompok mana yang berbeda dilakukan uji Tukey HSD dengan hasil pada tabel 2.

Research Article

Tabel 2 Uji Beda Rerata Penyembuhan Luka dengan Tukey HSD

Kelompok	EEDM 25%	EEDM 12,5%	EEDM 6,25%	Pembanding	Kontrol
EEDM 25%		*	**	**	**
EEDM 12,5%			*	*	*
EEDM 6,25%				NS	NS
Pembanding					NS
Kontrol					

Keterangan :

Kontrol : kelompok akuades

Pembanding : kelompok *povidone iodine* 10%

EEDM 25% : kelompok ekstrak etanol daun mimba 25%

EEDM 12,5% : kelompok ekstrak etanol daun mimba 12,5%

EEDM 6,25% : kelompok ekstrak etanol daun mimba 6,25%

* : signifikan

** : sangat signifikan

NS : *no significancy* (tidak signifikan)

Tabel 2 menunjukkan rerata lama penyembuhan luka antara kelompok EEDM 25% dibandingkan dengan kelompok EEDM 12,5% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p=0,049$. Dengan demikian menunjukkan bahwa kelompok EEDM 25% memiliki potensi yang lebih kuat daripada EEDM 12,5% dalam mempercepat penyembuhan luka.

Rerata kelompok EEDM 25% dibandingkan dengan kelompok EEDM 6,25%, pembanding dan kontrol menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan dengan nilai $p=0,000$, $p=0,000$, dan $p=0,000$. Dengan demikian, kelompok EEDM 25% memiliki potensi yang lebih kuat daripada EEDM 6,25%, pembanding dan kontrol dalam mempercepat penyembuhan luka.

Kelompok EEDM 12,5% jika dibandingkan dengan kelompok EEDM 6,25%, pembanding dan kontrol menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p=0,049$, $p=0,049$ dan $p=0,016$. Dengan demikian menunjukkan bahwa kelompok EEDM 12,5% memiliki potensi yang lebih kuat daripada kelompok EEDM 6,25%, pembanding dan kontrol dalam mempercepat penyembuhan luka.

Rerata kelompok EEDM 6,25% jika dibandingkan dengan kelompok pembanding dan kontrol menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan, dengan nilai $p=1,000$ dan $p=0,988$. Hal ini menunjukkan bahwa EEDM 6,25% mempunyai potensi yang setara dengan kelompok pembanding dan kontrol dalam mempercepat penyembuhan luka.

Pada kelompok pembanding (*Povidone iodine* 10%) dibandingkan dengan kelompok kontrol (akuades) menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan nilai $p=0,988$. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok pembanding (*Povidone iodine* 10%) mempunyai potensi yang setara dengan kelompok kontrol (akuades) dalam mempercepat penyembuhan luka.

Research Article

Diskusi

Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dengan konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25% menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dengan konsentrasi 6,25% menunjukkan waktu penyembuhan luka yang sebanding dengan *povidone iodine*. Sedangkan waktu penyembuhan luka yang paling cepat adalah ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dengan konsentrasi 25%. Hal ini mungkin disebabkan karena daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) mengandung senyawa kimia dan senyawa aktif seperti flavonoid (*quercetin* dan *rutin*), alkaloid, saponin, tanin, nimbidin, yang berpengaruh dalam mempercepat penyembuhan luka.^{12,13}

Flavonoid seperti *quercetin* dan *rutin* berfungsi sebagai antioksidan melawan radikal bebas seperti *nitrite oxide*. Flavonoid memberikan efek proteksi terhadap reperfusi pada jaringan yang rusak akibat iskemik. Selain itu, dapat memodulasi respon imun dan memiliki aktivitas anti inflamasi.^{14,15}

Flavonoid menghambat *cyclooxygenase* yang memberikan efek antiinflamasi dan menurunkan fragilitas kapiler sehingga meningkatkan kekuatan jaringan ikat dan mengurangi terjadinya kebocoran kapiler ke interstitial, sehingga akan mencegah terjadinya edema.¹⁶ Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat antibakteri karena dapat merusak dinding sel bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, pembelahan sel terhambat dan menyebabkan kematian sel tersebut.¹⁷ Saponin dapat mempercepat aktivitas hemolitik, sebagai antibakteri, antivirus dan antioksidan. Selain itu, saponin juga memiliki aktivitas antiinflamasi yang dapat mengurangi edema dan inflamasi pada kulit.¹⁸ Tanin memicu terjadinya pembentukan sikatriks pada luka dengan cara memicu kontraksi luka, meningkatkan pembentukan kapiler dan fibroblas. Selain itu tanin juga berperan dalam mencegah dan melindungi jaringan dari kerusakan akibat radikal bebas.^{19,20} Nimbidin memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat respon neutrofil dan makrofag terhadap inflamasi dan menghambat terjadinya fagositosis. Selain itu, nimbidin menghambat produksi *nitric oxide* (NO) dan prostaglandin E2 (PGE2).²¹

Pada penelitian ini, kelompok EEDM 6,25% memiliki potensi yang sebanding dengan *povidone iodine* dalam mempercepat penyembuhan luka. Kelompok EEDM 25% dan EEDM 12,5% menunjukkan potensi yang lebih kuat dibandingkan *povidone*. Ini kemungkinan disebabkan karena semua senyawa kimia dan senyawa aktif yang terkandung dalam daun mimba pada konsentrasi 25% dan 12,5%, paling banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain.

Research Article

Povidone iodine merupakan salah satu pengobatan luka secara kimiawi yang sering kali digunakan dalam penyembuhan luka. *Povidone iodine* memiliki efek antimikroba, antiinflamasi, dan dapat menginduksi angiogenesis. *Povidone iodine* 10% dikatakan pula memiliki efek menghambat pertumbuhan fibroblas pada percobaan kultur sel secara *in vitro* dan dapat menimbulkan efek samping berupa reaksi hipersensitivitas yang dapat menurunkan migrasi dari neutrofil dan monosit.²² Hal tersebut menyebabkan penyembuhan luka lebih lama dibandingkan dengan EEDM 25% dan 12,5% serta memiliki potensi yang sebanding dengan EEDM 6,25%.

Simpulan

1. Ekstrak etanol daun mimba 6,25% (*Azadirachta indica* A. Juss) memiliki potensi yang sebanding dengan *povidone iodine* 10% dalam mempercepat penyembuhan luka.
2. Ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dengan konsentrasi 25% merupakan konsentrasi yang memiliki potensi terbaik dalam mempercepat penyembuhan luka.

Daftar Pustaka

1. Kaplan NE, Hentz VR. Emergency Management of Skin and Soft Tissue Wounds, An Illustrated Guide, LittleBrown. Boston: USA;1992.
2. Sjamsuhidajat R, Jong W. Luka dan Penyembuhan Luka dalam Buku Ajar Ilmu Bedah. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2005. p67-8.
3. Mercandetti, M. 2015. Wound Healing and Repair.[cited: July 8, 2015]. Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/1298129-overview#a5>.
4. Vowden K, Vowden P, Posnett J. The Resource Costs of Wound Care in Bradford and Airedale Primary Care Trust in the UK. *J Wound Care*. 2009;18(3): 93-8
5. U.S. Departement of Health and Human Services. 2009. The CDC Injury Research Agenda, 2009-2018. [cited September 2015]. Available from:[http://www.cdc.gov/injury/Research/Agenda/CDC Injury Research Agenda-a.pdf](http://www.cdc.gov/injury/Research/Agenda/CDC%20Injury%20Research%20Agenda-a.pdf).
6. WHO 2012. Road Traffic Injuries. [cited December 2014. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs358/en/>
7. Khan MN, Navqi AH. Antiseptics, Iodine, Povidone Iodine and Traumatic Wound Cleansing. *J Tissue Viability*, 2006; 16 (4): 6-10
8. Pandey G., Verma KK., Singh M. Evaluation of Phytochemical, Antibacterial and Free Radical Scavenging Properties of *Azadirachta indica* (neem) Leaves. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2014; 6 (2) : 444-7.
9. Sikka AA. Uji Efektifitas Larvasida Ekstrak Ethanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. [cited January 2015] Available from: http://eprints.undip.ac.id/8088/1/Ashry_Sikka.pdf.
10. Laksmiawati S. Uji Antibakteri ekstrak daun Mimba (*Azadirachta indica* A Juss) terhadap Bakteri. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII. 2005. [cited January 2015], Available from: <http://dosen.univpancasila.ac.id/dosenfile/2006211048137844196206September2013.pdf>.
11. Purohit SK., Solanki R, Soni R, Mathur V. Evaluation of Wound Healing Activity of Ethanolic Extract of *Azadirachta indica* Leaves in Male Albino Rats. *Asian J. Pharm. Tech*. 2013;3(2): 73-5
12. Biswas K, Chattopadhyay I, Banerjee RK, Bandyopadhyay U. Biological Activities and Medicinal Properties of Neem (*Azadirachta indica*). *Curr Sci*. 2002; 82(11): 1336-43
13. Depkes RI. 2013. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jilid II, Jakarta. h67-68
14. Lakhanpal P, Rai DK.. Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet J Med Update*. 2007; 2(2): 22-37.

Research Article

15. Neem Foundation. 2014 . [cited Juli 2015]. Available from: <http://www.neemfoundation.org/about-neem/chemistry-of-neem/>.
16. Mills S, Bone K. Principles of Herbal Pharmacology. In : Principles and Practice of Phytotherapy Modern Herbal Medicine. New York : Churchill Livingstone; 2013. p31-3.
17. Saifudin A. Alkaloid: Golongan Paling Prospek Menghasilkan Obat Baru. Dalam Barus WNU, Sitorus H, Lesmana I: Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kamboja (*Plumiera rubra*) pada Konsentrasi yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara In Vitro. 2006. [cited Juli 2015]. Available at: <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=131279&val=4108>
18. Kim YS, Cho IH, Jeong MJ, Jeong SJ, Nah SY, Cho YS, et al. Therapeutic Effect of Total Ginseng Saponin on Skin Wound Healing. *J Ginseng Res.* 2011; 35(3): 360–7.
19. Li K, Diao Y, Zhang H, Wang S, Zhang Z, Yu B, et al. Tannin Extracts From Immature Fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. Promote cutaneous wound healing in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2011; 1(86): 1-9
20. Agyare C, Dwobeng AS, Agyepong N, Boakye YD, Mensah KB, Ayande PG, et al. Antimicrobial, Antioxidant, and Wound Healing Properties of *Kigelia africana* (Lam.) Beneth. and *Strophanthus hispidus* DC. Hindawi Publishing Corporation *Advances in Pharmacological Sciences.* March 2013]. Available at: <http://downloads.hindawi.com/journals/aps/2013/692613.pdf>
21. Raj M. The Basic Needs to Achieve Wound Healing. Jaypee Brothers Medical Publishers Pvt. Ltd; 2011. p133-4
22. Vogt PM. PVP-iodine in Hydrosome and Hydrogel – A Novel Concept in Wound Therapy Leads to Enhanced Epithelialization and Reduced Loss of Skin Grafts. *Burns.* 2006; 32(6): 698-705.