

Pengaruh Melatonin Terhadap Kadar Leukosit Tikus Wistar Model Luka Bakar Dalam Kurun Waktu Dua Hari

The Effect of Melatonin on Leukocyte Levels in Burn Model Wistar Rats Within Two Days

Shafira Dian Prameswari^{✉*}, Ardana Tri Arianto^{**}, Purwoko^{**}, Sugeng Budi Santoso^{**}

*Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia

**SMF Anestesiologi dan Terapi Intensif, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret/ RSUD Dr. Moewardi, Surakarta, Indonesia

✉Korespondensi: shafdp17@student.uns.ac.id

ABSTRACT

Background: Burns are injuries that occur as a result of touching the body surface with objects that generate heat, either directly or indirectly. This can be caused by heat (fire, hot liquid/fat, or hot steam), radiation, electricity, or chemicals. Giving melatonin can be a therapy for burn patients. In burn therapy, melatonin plays a role in reducing oxidative stress and inflammation.

Objective: This study aims to determine the effect of melatonin on leukocyte levels in burn wound Wistar rats (within two days).

Methods: The research was experimental and was carried out in a laboratory using the randomized control group pre-test and post-test methods. The 12 rats used in this study were divided into 2 groups: K1—the control group and K2—the treatment group that was injected with melatonin. The data will be tested for distribution using the Shapiro-Wilk test. If the data distribution is normal, the hypothesis test is carried out with the Independent T-test and Paired T-test, but if the data distribution is not normal, the Mann-Whitney test can be carried out.

Results: From the results of the research conducted, there was a significant decrease in leukocyte levels of $6.483 \times 10^9/L$ in K2 significantly which was supported by the Paired T-test hypothesis which showed a comparison of leukocyte levels at T1 and T3 obtained P value = 0.01 which means significant and said to be significant if $P < 0.05$

Conclusion: There is an effect of melatonin on the leukocyte levels of the burn model Wistar rats (within two days).

Keywords: burn; leukocyte levels; melatonin; rats; wistar

ABSTRAK

Latar Belakang: Luka bakar adalah luka yang terjadi akibat sentuhan permukaan tubuh dengan benda-benda yang menghasilkan panas baik kontak secara langsung maupun tidak langsung. Hal tersebut bisa disebabkan oleh panas (api, cairan/lemak panas, maupun uap panas), radiasi, listrik, kimia. Pemberian melatonin mampu menjadi salah satu terapi pada penderita luka bakar. Dalam terapi luka bakar melatonin berperan dalam mengurangi stress oksidatif dan peradangan.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh melatonin terhadap kadar leukosit tikus wistar model luka bakar (dalam kurun waktu dua hari).

Metode: Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental yang dilakukan pada laboratorium dengan metode *randomized control group pre test dan post test*. Tikus yang digunakan pada penelitian ini berjumlah 12 yang akan dibagi menjadi 2 kelompok: K1–kelompok kontrol dan K2–kelompok perlakuan yang diinjeksi melatonin. Data akan dilakukan uji distribusinya menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Jika distribusi data normal uji hipotesis dilakukan dengan *Independent T-test* dan *Paired T-test* namun jika distribusi data tidak normal dapat dilakukan uji *Mann-Whitney*.

Hasil: Dari hasil penelitian yang dilakukan terdapat penurunan kadar leukosit yang signifikan sebesar $6,483 \times 10^9/L$ pada K2 secara signifikan yang didukung dengan uji hipotesis *Paired T-test* yang menunjukkan perbandingan kadar leukosit pada T1 dan T3 didapatkan nilai $P = 0,01$ yang berarti signifikan dan dikatakan signifikan apabila $P < 0,05$

Kesimpulan: Terdapat pengaruh melatonin terhadap kadar leukosit tikus wistar model luka bakar (dalam kurun waktu dua hari).

Kata Kunci: kadar leukosit; luka bakar; melatonin; tikus; wistar

PENDAHULUAN

Luka bakar adalah luka yang terjadi akibat adanya sentuhan permukaan tubuh dengan benda-benda yang menghasilkan panas baik kontak secara langsung maupun tidak langsung. Hal tersebut bisa disebabkan oleh panas (api, cairan/lemak panas, maupun uap panas), radiasi, listrik, kimia.¹ Menurut WHO diperkirakan terjadi lebih dari 300.000 kematian di dunia setiap tahunnya yang berhubungan dengan luka bakar yang disebabkan oleh kebakaran.² Di Indonesia sendiri menurut laporan nasional Riset Kesehatan Dasar Kementerian Kesehatan RI 2018 prevalensi luka bakar yang terjadi yakni 1,3%, dimana prevalensi tertinggi yaitu Provinsi Papua sebesar 2,1%.³ Dalam luka bakar gender berperan penting dalam faktor risikonya, rata-rata di

negara berkembang didominasi oleh perempuan akibat kebakaran dari bahan bakar masak ataupun pemanas, sedangkan di negara maju didominasi oleh pria akibat kecelakaan industri. Anak-anak juga rentan terhadap luka bakar, dimana pada penelitian tercatat hampir 50% dari pasien luka bakar mayoritas anak-anak.⁴

Luka bakar memiliki efek yang terjadi pada kulit, sistem kardiovaskular, renal, gastrointestinal, imun dan sistem respiratori. Efek yang terjadi pada kulit setelah luka bakar bergantung pada luas dan ukuran dari luka bakar sendiri. Pada luka bakar yang berukuran kecil, respons tubuh akan terbatas pada area luka saja. Pada luka bakar yang berukuran luas terjadi respons tubuh yang bersifat sistemik dan memengaruhi sistem tubuh

kitaseperti sistem kardiovaskuler. Pada 18-36 jam setelah paparan luka bakar, permeabilitas kapiler akan menurun, namun tidak mampu kembali seperti keadaan normal sampai 2 atau 3 minggu setelah terkena luka.

Setelah itu ada sistem renal dan gastrointestinal, apabila terjadi luka bakar, respons awal tubuh menunjukkan berkurangnya darah ke ginjal dan turunnya GFR (*Glomerular Filtration Rate*) yang akan menyebabkan oliguri. Sehingga aliran darah yang menuju ke usus berkurang, dan terjadi ileus intestinal serta disfungsi gastrointestinal pada pasien dengan luka bakar.

Selain itu, sistem imun juga akan mengalami depresi. Depresi yang terjadi yakni pada aktivitas limfosit, adanya penurunan produksi immunoglobulin, gangguan fungsi neutrofil serta makrofag.

Sistem respiratori juga akan terjadi gangguan dengan adanya luka bakar, seperti terjadinya hipertensi arteri pulmoner, yang mengakibatkan turunnya kadar oksigen arteri dan "*lung compliance*".⁵ Luka bakar akan memengaruhi kadar leukosit, dimana kadar leukosit akan cenderung meningkat.⁶

Leukosit adalah salah satu bagian dari susunan sel darah manusia yang berfungsi pada sistem imunitas ataupun membunuh kuman serta bibit penyakit yang masuk ke dalam aliran darah manusia. Pada luka bakar inflamasi dan infeksi mampu terjadi yang menyebabkan kadar leukosit meningkat. Inflamasi yang terjadi pada luka bakar, mampu diredakan dengan pemberian melatonin.⁷

Melatonin adalah neurohormon yang sintesis dan sekresinya dilakukan oleh kelenjar pineal pada cahaya normal ataupun pada kondisi yang gelap. Dengan adanya cahaya mampu menekan produksi melatonin.⁸ Dalam terapi luka bakar melatonin berperan dalam mengurangi stress oksidatif dan peradangan. Pengurangan stress oksidatif pada fungsi melatonin pada sel mampu timbul dari radikal bebas juga adanya stimulasi dari aktivitas pertahanan pada mekanisme antioksidan. Hal tersebut membuat aktifnya reseptor pada membran melatonin yakni melatonin 1 (MT1) meliputi hipotalamus, pars tuberalis dari hipofisis, serta pembuluh darah jantung serta melatonin 2 (MT2) meliputi retina dan hippocampus, yang memiliki fungsi merangsang produksi berbagai enzim antioksidan melalui beberapa jalur sinyal. Sehingga stress oksidatif mampu berkurang. Sedangkan pada perannya dalam mengurangi peradangan atau *anti-inflammatory*, melatonin mampu memberikan reaksi terhadap peradangan akut dan juga kronis. Pemberian melatonin eksogen pada hewan, sebelum peradangan akut, terbukti menunjukkan adanya penurunan respons inflamasi, pengurangan sitokin pro inflamasi, interleukin-1 β (IL-1 β), tumor *necrosis factor* (TNF- α), serta terjadi peningkatan kadar sitokin IL-4 anti inflamasi dalam serum. Selain itu, melatonin akan menghambat siklooksigenase (COX) serta *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), berbarengan dengan pengurangan produksi prostanoide dan leukotriene yang memiliki konsentrasi tinggi, dan menjadi mediator lain pada proses inflamasi, yakni seperti kemokin serta molekul adhesi.⁹ Dalam peran farmakologisnya melatonin mampu menstimulasi berbagai enzim antioksidan, mengurangi proinflamasi pada sitokin, menghambat molekul

adhesi, dan mengurangi toksisitas obat yang digunakan untuk terapi luka bakar termal.¹⁰ Penelitian yang sebelumnya telah dilakukan dengan judul “Pengaruh Melatonin Terhadap Kadar leukosit Tikus Wistar Model Luka Bakar”, memiliki hasil yaitu pemberian melatonin terhadap kadar leukosit tikus wistar pada kelompok perlakuan tidak menunjukkan penurunan secara signifikan dibanding dengan kelompok kontrol.¹¹

Penulis ingin melakukan penelitian ini yang pertama dari kesimpulan penelitian sebelumnya dimana pemberian melatonin terhadap kadar leukosit tikus wistar pada kelompok perlakuan tidak menunjukkan penurunan secara signifikan dibanding dengan kelompok kontrol. Kemudian yang kedua yakni pengaruh melatonin terhadap siklus nokturnal ataupun tidur dimana dengan dilakukan selama dua hari supaya lebih optimal, mengingat dimana pembentukan melatonin pada keadaan yang gelap atau keadaan tidur dan biasa disebut “*hormone of darkness*”.¹² Penulis ingin mengetahui lebih lanjut apakah terdapat pengaruh melatonin terhadap kadar leukosit tikus wistar akibat luka bakar dalam kurun waktu dua hari.

METODE

Penelitian yang dilakukan ini bersifat eksperimental yang dilakukan pada laboratorium dengan metode *randomized control group pre test dan post test*. Dari sampel yang ada akan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok diberi perlakuan yang dipilih secara acak. Disini peneliti akan menggunakan sistem tabel angka *random* dengan penomoran. Penelitian yang penulis lakukan akan dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang (UNNES) dan Laboratorium Kesehatan Hewan Kota Semarang untuk menghitung kadar

leukosit. Populasi yang akan digunakan pada penelitian ini yakni tikus wistar (*Rattus novergicus*) dengan jenis kelamin jantan yang berada di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang (UNNES). Sampel penelitian yang diambil dipastikan telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Kriteria inklusi pada penelitian ini yakni tikus wistar dengan kelamin jantan, sehat dengan ciri bergerak dengan aktif, berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-300 gram. Kemudian, untuk kriteria eksklusinya yakni tikus wistar tidak bergerak dengan aktif selama masa adaptasi dan terdapat kelainan anatomis pada tikus. Selain itu, terdapat kriteria dropout seperti tikus mati selama penelitian.

Variabel yang akan digunakan pada penelitian ini meliputi variabel bebas, terikat, dan moderator. Untuk variabel bebas yang digunakan yakni melatonin. Variabel terikat terdiri dari kadar leukosit. Serta variabel moderator yang memengaruhi kedua variabel bebas dan terikat yakni dalam kurun waktu dua hari. *Ethical clearance* yang digunakan pada penelitian ini dikeluarkan oleh Komite Etika Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi.

HASIL

Kelompok pertama atau K1 merupakan kelompok tikus yang tidak diberi injeksi melatonin pasca luka bakar. Kelompok kedua atau K2 merupakan kelompok tikus yang diberi injeksi melatonin dengan dosis 2mg/tikus via intraperioteneal pasca luka bakar yang dibuat sebesar 30% dari besar permukaan tubuh tikus yang sebelumnya telah dihitung menggunakan rumus Meeh's formula dengan menggunakan lempeng besi yang telah dimasukkan ke dalam air panas dengan suhu 90°C. Pada K1 dan K2 dilakukan pemeriksaan kadar

leukosit jam ke 0 (T1), jam ke 24 (T2) dan jam ke 48 (T3) setelah luka bakar. Perhitungan kadar leukosit pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat *Hematology Analyzer* yang dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Hewan Semarang. Sampel darah yang digunakan pada pemeriksaan kadar leukosit diambil pada pembuluh darah pada retro-orbital kemudian

dilakukan pemeriksaan sebanyak tiga kali yakni sesaat T1, T2 dan T3. Kegiatan dilaksanakannya pemberian luka bakar hingga perhitungan kadar leukosit dilaksanakan pada 25 dan 26 April 2022. Dari perhitungan kadar leukosit menggunakan alat *Hematology Analyzer* didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil perhitungan kadar leukosit menggunakan alat *hematology analyzer*

Kode	Kadar Leukosit (x 10 ⁹ /L)		
	T1	T2	T3
K1.1	11,8	9,4	16
K1.2	14,2	6,9	7,9
K1.3	14,5	9,8	9,3
K1.4	14,6	9,6	14,1
K1.5	12,2	12	11,4
K1.6	14,2	10,1	9,7
K2.1	11,6	6,9	5,2
K2.2	16	8,8	8,8
K2.3	12,1	5,3	5,2
K2.4	18,8	10,9	12,2
K2.5	9,2	8,6	6,4
K2.6	16,2	18,2	7,2

Tabel 2. Hasil uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*

Variabel (Kadar Leukosit)	Kelompok		
	K1	K2	Ket
T1	0,034	0,726*	K1 : TN
T2	0,453*	0,208*	N
T3	0,633*	0,242*	N

Tabel 3. Hasil uji hipotesis paired *T-Test*

Kelompok	Kadar Leukosit		
	T1 & T2	T2 & T3	T3 & T1
K1		0,217	
K2	0,051	0,265	0,01*

Tabel 4. Ranks uji Mann-Whitney

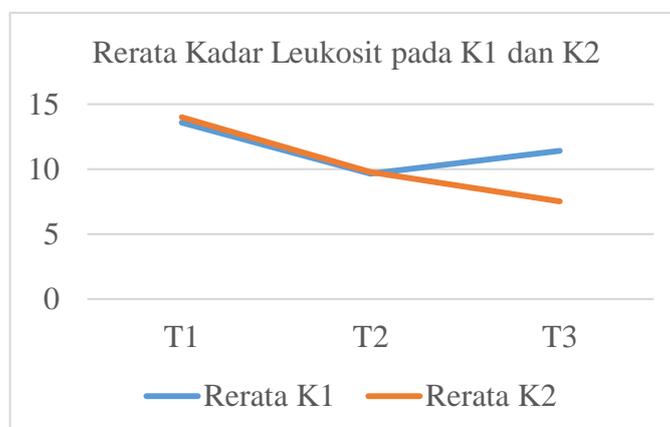
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
T1	K1	6	6,33	38,00
	K2	6	6,67	40,00
	Total	12		

Tabel 5. Test statistics^a uji Mann-Whitney

	Pada T1
Mann-Whitney U	17,000
Wilcoxon W	38,000
Z	-.160
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,873
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,937 ^b

Tabel 6. Hasil uji hipotesis *parametric independent T-Test*

Kadar Leukosit	Rerata Leukosit(x10 ⁹ /L) ± Standar Deviasi		P
	K1	K2	
T2	9,63 ± 1,63	9,78 ± 4,53	0,941
T3	11,40 ± 3,09	7,50 ± 2,67	0,042*



Gambar 1. Perbandingan Kadar Leukosit

Tabel 1 menunjukkan adanya perbandingan kadar leukosit K1 dan K2 pada waktu T1, T2, dan T3 pada setiap tikusnya. Uji *Shapiro-Wilk* merupakan uji untuk mengetahui apakah sebuah data terdistribusi normal atau tidak. Pada Tabel 2 diatas menunjukkan adanya distribusi data yang normal pada semua waktu dan kelompok kecuali pada waktu T1 kelompok K1 memiliki distribusi data yang tidak normal.

Tabel 3 menunjukkan hasil uji hipotesis *Paired T- Test* dimana perbandingan waktu T3 dan T1 pada kelompok K2 menunjukkan hasil yang signifikan dengan $P = 0,01$.

Data Tabel 4 dan Tabel 5 menunjukkan adanya hasil uji statistik *Mann-Whitney* yang menunjukkan nilai *Asymp. Signifikansi* 0,873.

Pada Tabel 6 uji hipotesis *Parametric Independent T-Test* diatas perbandingan kadar leukosit pada K1 ataupun K2 pada waktu T2 didapatkan $P = 0,941$. Maka dapat disimpulkan bahwa T2 pemberian melatonin tidak ditemukan adanya perbedaan kadar leukosit yang bermakna. Sementara, pada T3 didapatkan nilai P yang signifikan.

PEMBAHASAN

Luka bakar adalah luka yang terjadi akibat sentuhan permukaan tubuh dengan dengan benda-benda yang menghasilkan panas baik kontak secara langsung maupun tidak langsung. Hal tersebut bisa disebabkan oleh panas (api, cairan/lemak panas, maupun uap panas), radiasi, listrik, kimia.¹ Luka bakar mampu menyebabkan adanya inflamasi yang memengaruhi berbagai sistem imun sehingga bisa menyebabkan kegagalan organ yang *multiple* bahkan terjadi kematian.¹³

Dengan tingginya angka kematian akibat luka bakar terutama pada negara berkembang, penulis terdorong untuk melakukan penelitian dengan harapan melatonin mampu berpengaruh dalam mencegah komplikasi pada luka bakar selama 2 hari pasca paparan.⁴

Dampak dari adanya reaksi sumsum tulang terhadap inflamasi dan infeksi akibat luka bakar, mampu menyebabkan adanya leukositosis atau peningkatan kadar leukosit. Kadar leukosit dikatakan darurat dalam keadaan medis apabila diatas $100.000 /\text{mm}^3$ ($100 \times 10^9 /\text{L}$).¹⁴

Dari penelitian yang penulis lakukan didapatkan hasil terdapat penurunan kadar leukosit dari waktu T1 hingga T3 pada kelompok perlakuan. Sedangkan, pada kelompok K1 terdapat penurunan pada waktu T1 ke T2 kemudian meningkat pada waktu T2 ke T3. Dimana hal tersebut sejalan dengan teori bahwa melatonin pada tikus mampu mengoptimalkan penurunan kadar leukosit karena melatonin memiliki fungsi sebagai penghambatan sitokin proinflamasi.¹⁰

Melatonin adalah neurohormon yang disekresikan oleh kelenjar pineal dan diatur oleh siklus gelap atau terang. Terutama disekresikan pada malam hari dan terlibat dalam tidur dan aktivitas manusia. Selain itu, melatonin memiliki fungsi sebagai antioksidan yang mampu membantu pasien dengan luka bakar.^{15,16}

Menurut penelitian yang berjudul *Protective effects of Melatonin on the Skin: Future Perspectives* melatonin memiliki peran sebagai antioksidan dan anti-inflamasi yang mampu mengobati adanya patologi pada kulit salah satunya dalam penyembuhan luka.¹⁶

Hal tersebut sesuai dengan penelitian penulis yang diperkuat dengan sebuah penelitian yang berjudul *Innate Immune System Response to Burn Damage – Focus on Cytokine Alteration*. Pada penelitian itu disebutkan bahwa melatonin merupakan sebuah senyawa neurohormon yang memiliki sifat antioksidan yang mampu berkontribusi dalam pengurangan stres oksidatif dan memiliki efek perlindungan pada kerusakan kulit akibat luka bakar. Dengan pemberian melatonin mampu menekan IL-1b dan IL-6 yang nantinya dapat menurunkan kadar leukosit.¹⁷

Luka bakar yang terjadi pada permukaan yang luas mampu menghasilkan adanya respons luka dan disant-organ injury (DOI) yang disebabkan oleh adanya stress oksidatif dan juga peradangan. Dalam hal tersebut melatonin menunjukkan adanya harapan dalam mengurangi stress oksidatif dan juga peradangan⁷. Pengaruh melatonin terhadap luka bakar yaitu dalam bentuk penghambat produksi sitokin proinflamasi dalam mengurangi peradangan akut dan kronis serta berperan sebagai anti inflamasi dengan cara menekan respons peradangan dengan menunjukkan adanya sebuah perbaikan atau kekebalan pada keadaan yang tidak meradang.¹⁸ Selain itu, didukung juga oleh penelitian yang berjudul *Effects of Melatonin Treatment in Septic Newborns* menyebutkan bahwa melatonin memiliki efek anti-inflamasi yang nantinya akan menurunkan WBC (*White Blood Cell*) setelah 24 jam dan turun kembali secara signifikan setelah 48 jam.¹⁹

Hal tersebut relevan dengan hasil pada penelitian ini dimana pada pengukuran rerata kadar leukosit pada T1 diawali dengan peningkatan kadar leukosit. Kemudian, pada T2 masih terdapat

peningkatan kadar leukosit dan pada T3 diperoleh penurunan kadar leukosit pasca pemberian melatonin dengan dosis 10 mg/KgBB. Dari hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa lama pemberian melatonin sesuai dengan hipotesis dimana pemberian melatonin dapat menurunkan kadar leukosit terhadap tikus wistar model luka bakar dalam kurun waktu dua hari.

Keterbatasan yang ada pada penelitian ini adalah peneliti tidak menggunakan dosis melatonin yang bervariasi dan derajat luka bakar yang bertingkat untuk mengetahui dosis melatonin yang efektif untuk menurunkan kadar leukosit pada derajat tertentu. Kemudian, keterbatasan lainnya pada penelitian ini adalah peneliti hanya melakukan pemeriksaan pada parameter darah leukosit saja karena pada saat terjadinya luka bakar terdapat adanya peningkatan kadar leukosit yang disebabkan adanya infeksi, semakin tinggi kadar leukosit semakin tinggi pula infeksi yang terjadi.²⁰ Sehingga peningkatan kadar leukosit tersebut harus teratasi untuk meredakan adanya infeksi lebih lanjut pada pasien luka bakar.

Dengan keterbatasan tersebut tidak memengaruhi keberhasilan pada penelitian ini karena hasil yang didapat sesuai dengan hipotesis melatonin berpengaruh terhadap kadar leukosit tikus wistar dalam kurun waktu dua hari.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh melatonin terhadap penurunan kadar leukosit pada tikus wistar model luka bakar (dalam kurun waktu dua hari).

DAFTAR PUSTAKA

1. Anggowarsito JL. Luka Bakar Sudut Pandang Dermatologi. *J Widya Med [Internet]*. 2014 [cited 2021 Dec 4];2(2):115–20. Available from: <http://journal.wima.ac.id/index.php/JWM/article/view/852>
 2. Charles M, Michael P, Etienne K. A WHO plan for burn prevention and care. *World Heal Organ*. 2008;
 3. RI Kemenkes. *Laporan Nasional RKD2018_FIN AL.pdf*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2018. p. 198
 4. Dissanaiké S, Rahimi M. Epidemiology of burn injuries: Highlighting cultural and socio-demographic aspects. *Int Rev Psychiatry [Internet]*. 2009 Jan 1 [cited 2021 Dec 4];21(6):505–11. Available from: <https://doi.org/10.3109/09540260903340865>
 5. Doub JP. penatalaksanaan luka bakar (combustio). 2012;08(September):262
 6. Febrianto R, Farhanah N, Sari EP. Hubungan Luka Bakar Derajat Sedang Dan Berat Menurut Kategori American Burn Association Dan Faktor “ Faktor Yang Memengaruhi Kejadian Sepsis Di Rsup Dr. Kariadi. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro)*. 2016;5(4):1526–34
 7. Sumsuzzman DM, Choi J, Khan ZA, Hong Y. Protective effects of melatonin against severe burn-induced distant organ injury: A systematic review and meta-analysis of experimental studies. *Antioxidants*. 2020;9(12):1–21
 8. Claustrat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie*. 2015;61(2–3):77–84
 9. Chitimus DM, Popescu MR, Voiculescu SE, Panaitescu AM, Pavel B, Zagrean L, et al. Melatonin’s impact on antioxidative and anti-inflammatory reprogramming in homeostasis and disease. *Biomolecules*. 2020;10(9):1–28
 10. Maldonado MD, Murillo-Cabezas F, Calvo JR, Lardone PJ, Tan DX, Guerrero JM, et al. Melatonin as pharmacologic support in burn patients: A proposed solution to thermal injury-related lymphocytopenia and oxidative damage. *Crit Care Med [Internet]*. 2007 [cited 2021 Dec 4];35(4). Available from: https://journals.lww.com/ccmjournals/Fulltext/2007/04000/Melatonin_as_pharmacologic_support_in_burn.25.aspx
 11. Kurniawan MF, Utami SB, Fulyani F, Kresnoadi E, Wicaksono SA. Melatonin prevented the elevation of leukocyte count and the decreased of hematocrit levels in burn-induced wistar rats. *Bali Med J*. 2021;10(2):668–72
 12. Guardiola-Lemaitre B. Toxicology of Melatonin. *J Biol Rhythms*. 1997;12(6):697–706
 13. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Prim*. 2020;6(1)
 14. Kurdi MS, Patel T. The role of melatonin in anesthesia and critical care. *Indian J Anaesth*. 2013;57(2):137-44
 15. Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Maestroni GJ, Cardinali DP, Poeggeler B, Hardeland R. Melatonin: Nature’s most versatile biological signal? *FEBS J*. 2006;273(13):2813-38
 16. Rusanova I, Mart L, Florido J. Protective Effects of Melatonin on the Skin : Future Perspectives. 2019;
-

17. Sierawska O, Małkowska P, Taskin C, Hryniewicz R, Mertowska P, Grywalska E, et al. Innate Immune System Response to Burn Damage—Focus on Cytokine Alteration. *Int J Mol Sci.* 2022;23(2)
18. Gitto E, Karbownik M, Reiter RJ, Xian Tan D, Cuzzocrea S, Chiurazzi P, et al. Effects of melatonin treatment in septic newborns. *Effects of Melatonin. Oxidative Medicine and Cellular Longevity,* 20
Pediatr Res. 2001;50(6):756–60
19. Shareef RH, Zwain ZD, Mahbuba WA. Superiority of lymphocyte ratio over total leukocyte count in detecting the severity of COVID-19 pneumonia. *Heliyon.* 2021;7(11):e08412
20. Espino J, Pariente JA and Rodríguez AB (2012). *Oxidative Stress and Immunosenescence: Therapeutic*