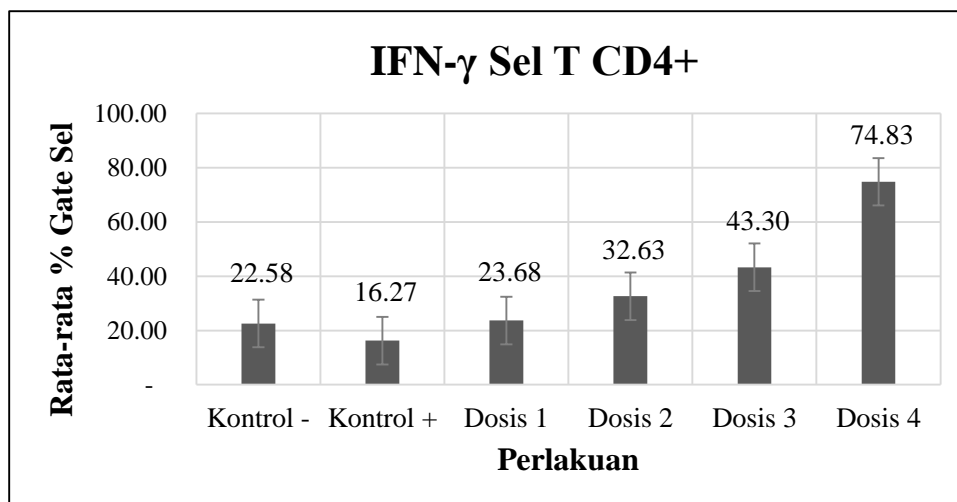


BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Efek Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*) terhadap Kadar Interferon- γ (IFN- γ) Sel T CD4⁺

Hasil penelitian dari pengaruh pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) terhadap kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ yang terpapar *M. bovis* menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun kelor memiliki rata-rata yang meningkat dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun kelor dari dosis yang semakin tinggi memiliki rata-rata yang berbanding lurus dengan peningkatan kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ hingga mencapai peningkatan maksimum pada dosis 1000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. sedangkan pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ mengalami penurunan jumlah sel sebesar 6,31%. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Hirsch *et al.* (1999) yang mengatakan bahwa ketika sel terinfeksi *Mycobacterium* maka mengalami hiporesponsif sel T yang dipicu oleh tingkat apoptosis yang tinggi. Hiporesponsif sel T menyebabkan keadaan respon imun tubuh berkurang karena terjadi pengurangan jumlah sel T, sehingga menyebabkan sel T tidak mampu menekan infeksi bakteri sehingga bakteri mampu berkembang dan menginfeksi lebih banyak. Grafik peningkatan jumlah IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ dapat dilihat pada **gambar 5.1** berikut:



Gambar 5.1 Grafik Rataan Prosentase Kadar Sitokin IFN- γ yang diproduksi sel T CD4⁺
Keterangan: Kontrol Negatif, Kontrol Positif, Dosis 1: 125 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, Dosis 2: 250 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, Dosis 3: 500 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, Dosis 4: 1000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

Pada pengujian statistik menggunakan *one way* ANOVA (CI 95%) menunjukkan bahwa rata-rata perlakuan pemberian ekstrak daun kelor cenderung meningkat dibandingkan dengan rata-rata kelompok kontrol negatif dan kontrol positif (Lampiran 12). Pada hasil *post hoc* dengan uji Tuket didapatkan hasil bahwa kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan (berbeda nyata) dibandingkan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif (Lampiran 12). Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun kelor dan ipapar oleh bakteri *M. bovis* memiliki rata-rata kadar IFN- γ yang meningkat dibandingkan rata-rata kelompok kontrol dengan ditunjukkan adanya perbedaan notasi dari setiap perlakuan. Adanya perbedaan notasi dari setiap perlakuan menunjukkan bahwa setiap perlakuan memiliki pengaruh yang signifikan terhadap sel T CD4⁺ dalam memproduksi IFN- γ seperti yang ditunjukkan pada table 5.1 berikut:

Tabel 5.1 Rata-rata Kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar IFN-γ \pm SD
Kontrol Positif	15.0550 \pm 3.90277 ^a
Kontrol Negatif	22.5800 \pm 2.38407 ^b
Dosis 125 μ l/ μ l	23.6825 \pm 3.28666 ^b
Dosis 250 μ l/ μ l	32.6300 \pm 1.37543 ^c
Dosis 500 μ l/ μ l	43.3025 \pm 1.45589 ^d
Dosis 1000 μ l/ μ l	74.8325 \pm 2.49883 ^c

Ket:Notasi yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan

Hasil *post hoc* dengan uji Tukey didapatkan bahwa antara kultur sel T yang tidak dipapar oleh *M. bovis* dengan kultur sel T yang dipapar oleh *M. bovis* memiliki pengaruh yang nyata ditandai dengan adanya perbedaan notasi (kontrol negatif dengan notasi b, kontrol positif dengan notasi a). Hal tersebut menunjukkan bahwa sel T yang terpapar oleh *M. bovis* mengalami kondisi hiporesponsif sel T. Pada dosis 125 μ g/ μ l memiliki notasi yang sama dengan kontrol negatif (notasi b), tetapi memiliki perbedaan yang nyata dengan kontrol positif (notasi a). Hal tersebut menunjukkan bahwa pada dosis tersebut ekstrak daun kelor telah mampu memberikan pengaruh yang signifikan (berbeda nyata) terhadap peningkatan kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺. Pada dosis 250 μ g/ μ l dan 500 μ g/ μ l menunjukkan notasi yang berbeda dibandingkan kelompok kontrol yang berarti bahwa pada kedua dosis mampu memberikan pengaruh yang signifikan (berbeda nyata) terhadap peningkatan kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺. Peningkatan paling maksimum terjadi pada dosis 1000 μ g/ μ l dengan prosentase kadar IFN- γ yang paling tinggi dari kelompok perlakuan yang lain. Dosis 1000 μ g/ μ l tidak dapat dikatakan sebagai dosis optimum dalam peningkatan

kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ karena hasil menunjukkan tidak adanya dosis toksik dari setiap kelompok perlakuan.

Menurut Lehner (2001) pada umumnya antigen yang masuk dalam tubuh baik yang disebabkan oleh bakteri, virus, parasit, fungi, prion, dan viroid akan selalu memicu sistem kekebalan tubuh dimulai dari pertahanan tubuh non spesifik dengan cara memusnahkan bakteri serta pertahanan tubuh spesifik dengan membentuk pertahanan yang lebih kompleks melalui produksi antibodi ataupun dengan memproduksi berbagai sitokin. Selama infeksi berlangsung, inflamasi berperan dalam membunuh bakteri pathogen penyebab infeksi, akan tetapi secara klinis juga dapat menimbulkan kerusakan jaringan. Untuk itu diperlukan regulasi yang bertujuan untuk memungkinkan proses penyembuhan yang sempurna, antara lain dengan bahan yang bersifat imunomodulator. Meningkatnya kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki efek imunostimulator berdasarkan hasil pada grafik rata-rata kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺. Peningkatan kadar IFN- γ yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ pada perlakuan dengan pemberian ekstrak daun kelor ini diduga disebabkan oleh kandungan bahan aktif daun kelor berupa senyawa flavonoid yang bertindak sebagai *Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK), sehingga dapat memicu proliferasi sel. Middleton *et al.* (2000) menyatakan, senyawa flavonoid dapat memicu aktivitas MAPK yang memicu terjadinya fosforilasi berbagai protein *transcription factor* yang dibutuhkan dalam proses sintesis protein.

Flavonoid dalam ekstrak daun kelor dapat meningkatkan sekresi sitokin IL-2 melalui banyuan sel Th (Sashiara *et al.*, 2007).

IL-2 memiliki peran yang sangat penting dalam membangkitkan respon imun dengan mempengaruhi pengembangan dari kelompok limfosit spesifik. Oleh karena itu, sekresi IL-2 oleh sel CD4⁺ Th1 merupakan sitokin yang penting dalam infeksi *Mycobacterium* (Raja, 2004). IL-2 merupakan factor pertumbuhan untuk sel T yang dirangsang oleh antigen dan berperan pada ekspansi klon sel T setelah antigen dikenali. Ekspresi resptor IL-2 ditingkatkan oleh rangsangan antigen sehingga sel T yang mengenal antigen merupakn sel utama yang berproliferasi pada respon imun spesifik. IL-2 meningkatkan proliferasi dan diferensiasi sel seperti sel T, sel NK, dan sel B. Selain itu IL-2 juga mencegah respon imun terhadap antigen sendiri melalui peningkatan apoptosis sel T melalui Fas dan merangsang aktivitas sel T regulatori (Baratawidjaja, 2013).

Sekresi IL-2 yang meningkat stelah pemberian ekstrak daun kelor memicu peningkatan sekresi IFN- γ . IFN- γ merupakan sitokin kunci dalam mengontrol infeksi *Mycobacterium* yang diproduksi oleh sel T CD4⁺ dan CD8⁺, serta sel NK. IFN- γ memiliki kemampuan untuk memperbanyak APC yang berfungsi dalam mengarahkan sel limfosit T CD4⁺ maupun CD8⁺ untuk proses eliminasi mikroba (Raja, 2004). Hal yang paling penting dari IFN- γ dalam system imun adalah kemampuannya untuk menghambat replikasi secara langsung. Namun yang paling terpenting adalah pengaruh imunostimulator dan imunomodulator dari IFN- γ . IFN- γ

berbeda dalam hal biokimia dan biologiknya dibandingkan dengan IFN- α dan IFN- β , dimana keduanya dihasilkan oleh sel-sel yang terinfeksi virus. IFN- γ dihasilkan selama respon imun berlangsung oleh adanya antigen spesifik sel-sel T dan sel-sel NK yang dikumpulkan oleh IL-2. Pengaruh yang ditimbulkannya termasuk mengaktifkan makrofag untuk meningkatkan fagositosis dan kemampuan mengaktifkan serta meningkatkan pertumbuhan sel-sel T sitolitik dan sel-sel NK, meningkatkan presentasi antigen oleh makrofaga, mengaktifkan dan meningkatkan aktivitas lisosom di dalam makrofag, serta mengaktifkan APC dan merangsang diferensiasi Th1 dengan pengaturan transkripsi faktor T (Dinarello, 2000).

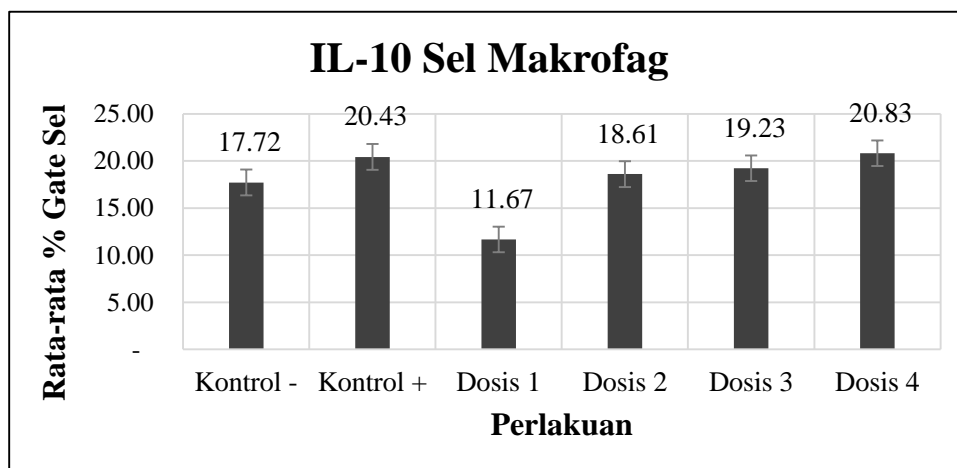
Menurut Wasityastuti (2009), sebagian besar pasien dengan infeksi TB aktif menderita defisiensi siste kekebalan tubuh. Hal ini biasanya ditunjukkan dengan rendahnya sekresi IFN- γ . Hal tersebut terjadi selama penelitian, bahwa kadar IFN- γ pada kultur sel T yang dipapar oleh *M. bovis* (kontrol positif) lebih rendah dibandingkan pada kultur sel T yang tidak dipapar oleh *M. bovis* (kontrol negatif). Hal ini menunjukkan bahwa secara umum defisiensi imunitas dalam bentuk respon imun seluler mengalami depresi, sehingga menyebabkan kegagalan *host* dalam melawan basil *M. bovis* yang berhasil mencapai dan besarang di paru-paru, baik pada bronkiolus maupun alveolus yang akan menghasilkan manifestasi infeksi tuberkulosis. Selin itu, penurunan sekresi IFN- γ oleh

sel mononuklear pada infeksi TBC dapat digunakan sebagai penanda parahnya infeksi TBC (Allende *et al.*, 2001).

5.2 Efek Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*) terhadap Kadar Interleukin 10 (IL-10) Sel Makrofag

Hasil penelitian terhadap kadar interleukin 10 (IL-10) yang diproduksi oleh sel makrofag menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) pada dosis 125 $\mu\text{l}/\mu\text{l}$ mengalami penurunan kadar IL-10 dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lainnya, hal ini berkebalikan dengan hasil ekspresi IFN- γ . Pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa kadar IL-10 yang diproduksi oleh sel makrofag mengalami peningkatan jumlah sel sebesar 2.71%. IL-10 merupakan sitokin anti inflamatori yang memiliki sifat yang berbanding terbalik dengan IFN- γ yang merupakan sitokin pro inflamatori. Peningkatan kadar IL-10 saat dipapar oleh *M. bovis* sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Cavalcanti *et al.* (2012) dan Beamer *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa infeksi *M. bovis* pada monosit menginduksi produksi IL-10 yang tinggi, berfungsi dalam membantu *Mycobacterium* untuk tumbuh dan berkembang pada *host* serta menghambat produksi sitokin pro-inflamasi (IFN- γ , TNF- α , dan IL-12). IL-10 merupakan inhibitor makrofag dan sel dendritik yang berperan dalam mengontrol reaksi imun nonspesifik dan imun seluler. IL-10 diproduksi terutama oleh makrofag yang diaktifkan, memiliki fungsi untuk respon tindakan dari

APC, menghalangi aktivasi limfosit T melalui penghambatan ekspresi molekul MHC kelas II. Hal tersebut merupakan contoh dari regulator *feedback* negatif. Grafik peningkatan IL-10 dapat dilihat pada **gambar 5.2** berikut :



Gambar 5.2 Grafik Rata-rata Prosentase Kadar Sitokin IL-10 yang diproduksi oleh Sel Makrofag

Keterangan: Kontrol Negatif, Kontrol Positif, Dosis 1: 125 µg/µl, Dosis 2: 250 µg/µl, Dosis 3: 500 µg/µl, Dosis 4: 1000 µg/µl

Pada pengujian statistik menggunakan *one way* ANOVA (CI 95%) menunjukkan bahwa kultur sel yang dipapar *M. bovis* mengalami peningkatan kadar IL-10 yang diproduksi oleh sel makrofag (kontrol positif). Pada hasil *post hoc* dengan uji Tukey didapatkan hasil bahwa antara kontrol negatif dan kontrol positif menunjukkan perbedaan yang nyata dengan adanya notasi yang berbeda, yaitu kontrol negatif memiliki notasi ab, sedangkan kontrol positif memiliki notasi c (Lampiran 13). Pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun kelor, menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan walaupun pada beberapa perlakuan

menunjukkan hasil tidak adanya perbedaan yang signifikan. Hasil uji statistika dapat dilihat pada tabel 5.2 berikut.

Tabel 5.2 Rata-rata Kadar IL-10 yang diproduksi oleh sel Makrofag

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar IFN-γ \pm SD
Dosis 125 μ l/ μ l	11.6675 \pm 1.96176 ^a
Kontrol Negatif	14.3400 \pm 1.75604 ^{ab}
Dosis 250 μ l/ μ l	18.6100 \pm 1.73680 ^{bc}
Dosis 500 μ l/ μ l	19.2300 \pm 2.53396 ^{bc}
Kontrol Positif	20.4325 \pm 4.01135 ^c
Dosis 1000 μ l/ μ l	20.8300 \pm 1.53338 ^c

Ket:Notasi yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan

Pada tabel 5.2 dapat dilihat bahwa pada dosis 125 μ g/ μ l terjadi penurunan kadar IL-10 yang diproduksi oleh makrofag dengan notasi a dan data deskriptif yang memiliki selisih prosentase sebesar 8,76% dibandingkan dengan kontrol positif. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada dosis 125 μ g/ μ l mengalami penurunan kadar IL-10 secara signifikan. Hasil *post hoc* dengan uji Tukey menunjukkan dosis 250 μ g/ μ l dan 500 μ g/ μ l tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan kontrol negatif maupun kontrol positif ditandai dengan notasi sama. Sedangkan pada dosis 1000 μ g/ μ l menunjukkan peningkatan kadar IL-10 yang paling tinggi melebihi kontrol positif dengan selisih 0,4% secara deskriptif, tetapi secara *post hoc* dengan uji Tukey tidak memiliki perbedaan yang signifikan ditandai dengan adanya notasi yang sama (notasi c). jika dilihat secara deskriptif (gambar 5.2), pada dosis 250 μ g/ μ l menunjukkan terjadinya peningkatan kadar IL-10 dengan prosentase sebesar 6,94% dibandingkan dengan dosis 125 μ g/ μ l. Hal tersebut menunjukkan bahwa mulai dari dosis 250 μ g/ μ l,

pemberian ekstrak daun kelor diduga telah memiliki efek toksik terhadap sel makrofag yang memproduksi IL-10.

Hasil uji yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antara perlakuan berdasarkan hasil *post hoc* dengan uji Tukey dapat disebabkan karena jumlah sel makrofag yang teraktivasi tidak dalam jumlah yang mencukupi untuk melakukan perlindungan terhadap infeksi *M. bovis*. Kurangnya jumlah sel makrofag yang teraktivasi menyebabkan kelompok perlakuan tidak mengalami perbedaan yang signifikan sehingga hasil *post hoc* dengan uji Tukey tidak terjadi perbedaan notasi pada kelompok perlakuan.

Infeksi dari *M. bovis* menginduksi produksi sitokin anti-inflamatori dan menghambat produksi sitokin proinflamatori utama. Pemberian ekstrak daun kelor pada kultur sel makrofag yang dipapar *M. bovis* diharapkan dapat menurunkan produksi dari IL-10 sehingga produksi sitokin proinflamatori seperti IFN- γ dapat meningkat dan membantu makrofag dalam mengeliminasi bakteri. Pada dosis 125 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dapat dilihat bahwa produksi IL-10 oleh sel makrofag mengalami penurunan jumlah. Akan tetapi, peningkatan jumlah IL-10 mulai terjadi pada dosis 250 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ yang memungkinkan dosis tersebut telah berefek toksik pada sel makrofag. Efek toksik yang ditimbulkan ekstrak daun kelor dapat disebabkan akibat efek dari kandungan saponin. Saponin merupakan fitonutrien yang sering disebut deterjen alam. Senyawa saponin bersifat antibakteri dan antivirus, serta dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh, meningkatkan daya

tahan, mengurangi kadar gula darah, dan mengurangi penggumpalan darah (Zaetun, 2014). Saponin terdapat dalam daun kelor dan telah terbukti memiliki dua sifat, yaitu sifat menguntungkan (peningkatan aktivitas makrofag) dan sifat merusak (sitotoksik), sehingga pada dosis tertentu memunculkan sifat yang merusak atau toksik karena kemampuannya untuk membentuk buih (*foaming agent*) seperti buih sabun. Sifat tersebut disebabkan karena saponin mempunyai amphiphilik sehingga mampu untuk menghemolisis sel darah dan memecah lemak pada membran sel sehingga timbul gangguan permeabilitas (Bamishaiye *et al.*, 2011; Rohyani dkk., 2015). Kandungan fitokimia saponin yang tinggi dalam ekstrak daun kelor inilah yang diduga menyebabkan toksik pada sel makrofag mulai dosis 250 µg/µl sehingga produksi IL-10 mengalami peningkatan.

Sitokin adalah salah satu dari sejumlah zat-zat yang dikeluarkan oleh sel-sel yang spesifik system kekebalan yang membawa sinyal local antar sel dan memiliki efek pada sel-sel lain. Sitokin adalah kategori yang menandakan molekul yang digunakan secara luas dalam komunikasi selular berupa protein, peptide, atau glikoprotein. Respon-respon terhadap sitokin diantaranya meningkatkan atau menurunkan ekspresi protein-protein membran (termasuk reseptor-reseptor sitokin), proliferasi, dan sekresi molekul-molekul efektor. Sitokin dapat bereaksi pada sel-sel yang mensekresinya (aksi autokrin) dan juga pada sel-sel terdekat dari sitokin disekresi (aksi parakrin). Sitokin juga bereaksi secara sinergis (dua atau

lebih sitokin bereaksi secara bersama-sama) atau secara antagonis (sitokin menyebabkan aktivitas yang berlawanan) (Indonesia Medicine, 2012). Sitokin IL-10 merupakan salah satu sitokin anti-inflamatori yang merupakan serangkaian molekul imunoregulator yang mengontrol respon sitokin proinflamasi. Sitokin bekerja dalam kaitan dengan inhibitor sitokin spesifik dan reseptor sitokin yang larut untuk mengatur respon kekebalan tubuh, peran fisiologis sitokin anti-inflamatori terjadi dalam respon peradangan dan peran patologis pada kondisi inflamasi sistemik (Sadi *et al.*, 2010).

Infeksi *M. bovis* menimbulkan aktivasi dan akumulasi makrofag yang terus-menerus sehingga memacu pembentukan granuloma berupa agregat fagosit mononuklear (sel makrofag) dan sel plasma. IL-10 merupakan inhibitor makrofag dan sel dendritik yang berperan dalam mengontrol reaksi imun nonspesifik dan imun seluler. IL-10 diproduksi terutama oleh sel makrofag yang diaktifkan (Baratawidjaja, 2013). Makrofag yang teraktivasi tampak lebih besar dengan pseudopodi yang bertambah panjang. Produksi enzim yang berada di dalam makrofag seperti katepsin G, asam fosfatase, lisozim, *beta glukoronidase*, *esteroprotease*, *hidrolise*, *myeloperoksidase*, dan *arylsulfatase* akan meningkat, sehingga sekresi interleukin dari sel makrofag juga meningkat (Besung, 2009).

IL-10 adalah sitokin yang diproduksi oleh sel Th2, sel dendritik, dan terutama makrofag yang aktif. Mocellin *et al.* (2003) menyatakan bahwa

IL-10 membawa efek pleiotropic, yaitu immunosupresan dan immunostimulan. Dalam infeksi tuberkulosis, IL-10 juga dikenal sebagai sitokin anti-inflamatori yang diproduksi oleh makrofag dengan fungsi untuk fagositosis *Mycobacterium* (Wasityastuti *et al.*, 2009). IL-10 memiliki fungsi untuk mencegah produksi IL-12 oleh makrofag dan sel dendritik yang diaktifkan. IL-10 juga mencegah ekspresi kostimulator molekul MHC-II pada makrofag dan sel dendritik. IL-12 merupakan mediator utama imunitas nonspesifik dini terhadap infeksi bakteri intraseluler dan merupakan inductor kunci dalam imunitas selular spesifik terhadap mikroba. Efek biologis dari IL-12 adalah merangsang produksi IFN- γ oleh sel NK dan sel T, diferensiasi sel T CD4⁺ menjadi sel Th1 yang memproduksi IFN- γ . IL-12 juga meningkatkan fungsi sitolitik sel NK dan sel CD8⁺/CTL (Baratawidjaja, 2013). Efek IL-10 yang memiliki fungsi mencegah produksi IL-12 berakibat pula pada produksi IFN- γ , dimana kedua sitokin tersebut merupakan sitokin penting dalam infeksi bakteri intraseluler. Meningkatnya produksi IL-10 menyebabkan *M. bovis* mampu berkembangbiak dan menginfeksi hospes.

Kecenderungan karakteristik negatif antara IFN- γ dan IL-10 pada infeksi tuberkulosis menunjukkan adanya *counterpart* atau *cross regulation* antara keduanya. IFN- γ sebagai sitokin sel limfosit T subset Th1 memiliki peran penting dalam imunitas protektif terhadap infeksi tuberkulosis. Seiring dengan TNF- α , IFN- γ akan mengaktifkan makrofag alveolar dan menghilangkan patogen intraselular melalui induksi kegiatan

antimikrobakterial seperti ekspresi NOS. Sedangkan IL-10 sebagai sitokin sel makrofag memiliki efek antagonis pada respon sitokin proinflamasi dengan *down-regulating* produksi IL-10 sehingga menurunkan produksi IFN- γ sel T dan aktivasi makrofag (Raja, 2004; Widyastuti *et al.*, 2003).

Pada infeksi *M. bovis* produksi sitokin proinflamatori berperan penting dalam kekebalan terhadap *bovine tuberculosis* dengan menginisiasi terjadinya proses inflamasi untuk melindungi jaringan sekitar dari penyebaran infeksi (Gabay, 2006). Proses inflamasi akan berjalan sampai antigen dapat disingkirkan dan inflamasi akan pulih setelah mediator inflamasi dinaktifkan. Inflamasi yang terjadi pada infeksi *M. bovis* merupakan inflamasi kronis. Inflamasi kronis terjadi apabila proses inflamasi akut mengalami kegagalan dan adanya antigen yang menetap. Antigen yang persisten menimbulkan aktivasi dan akumulasi makrofag yang terus-menerus. Hal ini menimbulkan terbentuknya sel epiteloid dan granuloma. Pembentukan granuloma pada infeksi bakteri kronis berupa agregat fagositosis mononuklear dan sel plasma yang disebut DTH (*Delayed Type Hypersensitivity*). Pembentukan granuloma akan mengisolasi focus inflamasi yang persisten, membatasi penyebaran bakterim dan memungkinkan fagosit mononuklear mempresentasikan antigen ke limfosit yang ada di permukaan. Mediator inflamasi kronis berupa TNF- α , IL-12, IL-18, IFN- γ , dan kemokin (Baratawidjaja, 2013).