

**DAMPAK INFEKSI *Escherichia coli* DAN ADHESIN PILI *Escherichia coli*
ISOLAT SEMEN PRIA INFERTIL BM 32.2 KDa PADA MOTILITAS, VITALITAS DAN
MORFOLOGI SPERMATOZOA MARMUT**

Sukarjati¹⁾, dan Sudjarwo²⁾

¹⁾Prodi Biologi, FMIPA Univ. PGRI Adi Buana Surabaya

²⁾Fakultas Farmasi, Univ. Airlangga Surabaya

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji dampak infeksi *E. coli* dan imunisasi adhesin pili *E. coli* BM 32.2 kDa terhadap kualitas spermatozoa Marmut. Sampel penelitian ini adalah spermatozoa dari 15 Marmut. Uji toksisitas adhesin pili *E. coli* BM 32.2 kDa terhadap kualitas spermatozoa marmut dilakukan dengan mengamati motilitas, vitalitas dan morfologi sperma marmut mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara marmut kontrol negatif dan marmut perlakuan (yang diimunisasi dengan adhesin pili *E. coli* BM 32.2 kDa) pada motilitas spermatozoa ($p=0.499$), vitalitas spermatozoa ($p=0.817$) dan morfologi normal spermatozoa ($p=0.176$). Antara marmut kontrol negatif dan marmut kontrol positif (yang diinfeksi dengan *E. coli* secara transuretral) ada perbedaan baik pada motilitas ($p=0.000$), vitalitas ($p=0.000$) maupun morfologi ($p=0.000$). Antara marmut kontrol positif dan marmut perlakuan ada perbedaan pada motilitas ($p=0.001$), vitalitas ($p=0.000$) dan morfologi ($p=0.000$). Hasil pengamatan morfologi menunjukkan bahwa pada marmut yang infeksi secara transuretral dengan *E. coli* tampak adanya granulosit dan *E. coli* yang melekat pada sperma epididimis. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa infeksi *E. coli* secara transuretral berdampak menurunkan kualitas sperma epididimis marmut dan protein adhesin pili *E. coli* BM 32.2 kDa yang diimunisasikan ke marmut tidak berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa epididimis Marmut.

Kata kunci : *E. coli*, adhesin, spermatozoa, marmut.

A. PENGANTAR

Infeksi traktus genitalis pria telah diakui sebagai salah satu penyebab infertilitas dimana infertilitas tersebut merupakan masalah dalam perkawinan. Menurut Khanna, (1992), 10% kasus infertilitas disebabkan oleh infeksi traktus genitalis pria. Hasil survey peneliti pada klinik infertilitas di Surabaya didapat bahwa dari 1727 sampel semen yang dikultur mulai tahun 1991 sampai 1997, semen terinfeksi *S.epidermidis*, *E. aerogenes*, *S.faecalis*, *S. aureus*, *S.viridans*, *Pseudomonas*, *E. coli* dan *S.pyogenik* (Sukarjati, 1998). Hasil penelitian yang telah dilakukan didapat bahwa *E.coli* berpengaruh terhadap motilitas sperma manusia (Sukarjati, 2002), vitalitas spermatozoa manusia (Sukarjati, 2001) dan merusak integritas membran spermatozoa manusia (Sukarjati, 2006a).

Telah dibuktikan Semen yang tercemar oleh *E. coli* mempunyai kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan kadar Malondialdehid (MDA) lebih tinggi dari pada semen yang tidak tercemar *E. coli* (Sukarjati, 2005). Kadar 8 OHdG sebagai indikator kerusakan DNA karena oksidasi didapat bahwa semen yang tercemar *E. coli* lebih tinggi. (Sukarjati, 2006b). Telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi protein pili *E. coli* isolat semen pria infertil. Protein pili *E.coli* isolat semen pria infertil tersebut mempunyai berat molekul

(BM) 32.2 kDa dan berfungsi sebagai adhesin bagi spermatozoa manusia (Sukarjati, 2007). Telah dibuktikan adhesin pili *E. coli* dengan BM 32.2 kDa tersebut mampu memblok/menghambat perlekatan *E. coli* ke spermatozoa manusia secara in vitro (Sukarjati, 2008). Telah dibuktikan bahwa adhesin pili *E. coli* dengan BM 32.2 kDa bersifat immunogenik (Sukarjati, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji dampak infeksi *E. coli* dan imunisasi adhesin pili *E. coli* BM 32.2 kDa terhadap kualitas spermatozoa marmut.

B. BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Protein adhesin pili *E. coli* BM 32,2 kDa, *E. coli* isolat semen pria infertil, marmut, medium agar McConkey, medium BHI, medium TGC, dan PBS.

Cara Kerja

1. Isolasi protein adhesin pili *E. coli* BM 32.2 Da
- a. Perbanyak *E.coli* dan Memperkaya Fimbrae (Pili).

E. coli dari stock diremajakan terlebih dahulu dengan membuat kultur di medium agar McConkey suhu 37⁰ C selama 24 jam. Kemudian biakan dari medium tersebut di inokulasi ke Erlenmeyer berisi 500 ml medium BHI, dan diinkubasi 24 jam, kemudian bakteri dituang ke 50 botol 250 ml yang telah berisi

medium TGC 25 ml (media untuk memperkaya fimbriae bakteri), masing-masing 10 ml. Dilakukan inkubasi 37^o C selama 48 jam. Selanjutnya biakan *E. coli* dikumpulkan jadi satu dalam tabung Erlenmeyer 1000 ml dan disiapkan untuk dilakukan pemotongan pili.

b. Pemotongan Pili

Suspensi *E. coli* siap potong di masukkan ke dalam tabung omnimixer steril dan di set pada alat omnimixer, kemudian dilakukan pemotongan pili menggunakan alat omnimixer pada suhu 4^oC, 3000 rpm selama 30 detik. Setelah di omnimixer, kemudian sampel disentrifus pada 4^oC, 6000 rpm selama 15 menit. Proses pemotongan ini di ulang sampai 5 kali.

c. Dialisis Fraksi Pili

Fraksi pili yang di peroleh, dilakukan proses dialisis menggunakan larutan PBS pH 7,4 pada suhu 4^oC selama 2x24 jam untuk menghilangkan sisa TCA.

d. Elektroforesis perbanyak protein adhesin

Dilakukan elektroforesis dengan metode SDS PAGE. Elektroforesis dilakukan dengan langkah kerja menyiapkan sampel, membuat plat gel yang terdiri main gel 12,5 % dan *stacking gel* serta membuat *running buffer*. Pewarnaan protein dilakukan dengan merendam gel dalam larutan 0,25 % *Comassie brilliant blue* selama 30 menit.

Gel hasil SDS -PAGE 12,5 % yang terdapat pita protein dengan BM 32.2 kDa dipotong secara mendatar pada sisi atas dan bawah pita. Kemudian potongan potongan pita dikumpulkan dimasukkan membran dialisis untuk dilakukan elektroelusi menggunakan alat elektroforesis horizontal apparatus, dengan larutan penyangga elektroforesis *running buffer*, aliran listrik 125 volt selama 2 jam. Hasil elektroelusi dilakukan dialisis dengan larutan PBS selama 2x24 jam, larutan diganti setiap 24 jam. Eluat di endapkan dengan larutan etanol absolut dingin semalam, sehingga diperoleh protein murni BM 32.2 kDa yang siap digunakan.

2. Prosedur Perlakuan

Setelah diperoleh molekul adhesin pili *E.coli* BM 32.2 kDa, protein adhesin tersebut selanjutnya digunakan uji toksisitas. Hewan coba yang digunakan adalah marmut, berkelamin jantan. Sebelum dipergunakan marmut di aklimatisasi terlebih dahulu selama 2 minggu. Marmut dikelompokkan menjadi 3 kelompok dengan perlakuan sebagai berikut : Marmut Perlakuan : Pada marmut yang diimmunisasi dengan Adhesin pili *E. coli* BM 32,2 kDa sejumlah 500 µg disuspensi dengan PBS 500 µl, ditambah Freund ajuvan komplit 500 µl, dicampur. Kemudian disuntikkan secara Sub kutan pada 5 titik, Berselang satu minggu kemudian disuntikkan ulangan adhesin

pili *E. coli* BM 32.2 kDa yang dicampur dengan *Freund ajuvan* inkomplit pada sub kutan di 5 titik. Penyuntikan ini dilanjutkan setiap minggu dengan cara yang sama sampai akhir minggu ke lima. Pada Marmut kontrol negatif : hanya disuntik PBS saja. Marmut yang diinfeksi buatan secara transuretral dengan *E. coli* isolat semen pria infertil selama 3 kali selang 3 hari (Kontrol positif). Pada minggu ke lima marmut dikorbankan, di ambil sperma epididimisnya dan dipisahkan saluran reproduksinya. Selanjutnya dilakukan pengamatan.

3. Pengamatan

a. Pengamatan motilitas

Spermatozoa epididimis Marmut segera diambil satu tetes pada *object glass* lalu ditutup *cover glass* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Motilitas ditentukan dengan kategori menurut WHO (1999) yaitu a. gerakan cepat maju lurus ke depan. b. gerakan lambat ke depan c. tidak bergerak maju atau bergerak di tempat d. tidak bergerak. Dilakukan penghitungan pada 100 spermatozoa.

b. Pengamatan morfologi spermatozoa

Satu tetes sperma epididimis ditetaskan pada obyek glass lalu ditipiskan dengan *cover glass* lalu dikeringkan di udara. Selanjutnya di warnai dengan safranin, di rendam alkohool 70 % selama 5 menit, kemudian di celup cepat dengan bufer fosfat 3 kali celup dan terakhir diwarnai dengan kristal violet selama 10 menit, di cuci dengan air dan dikeringkan. Selanjutnya dihitung sperma normal dan abnormal pada kepala, ekor dan bagian tengah pada 100 sperma menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali.

c. Pengamatan vitalitas

Spermatozoa epididimis diambil satu tetes pada *object glass*, lalu ditetesi satu tetes Eosin Y dan dicampur . Pengamatan dilakukan setelah 30 detik dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 x. Spermatozoa hidup tidak tercat dan sperma mati tercat merah. Dihitung pada 100 spermatozoa.

3. Analisis Data

Perbedaan motilitas, morfologi, vitalitas sperma antara sperma pada marmut kontrol , Marmut yang diinfeksi dengan *E. coli* dan Marmut yang diinjeksi dengan adhesin pili *E. coli* BM 32.2 kDa data dianalisis menggunakan uji F.

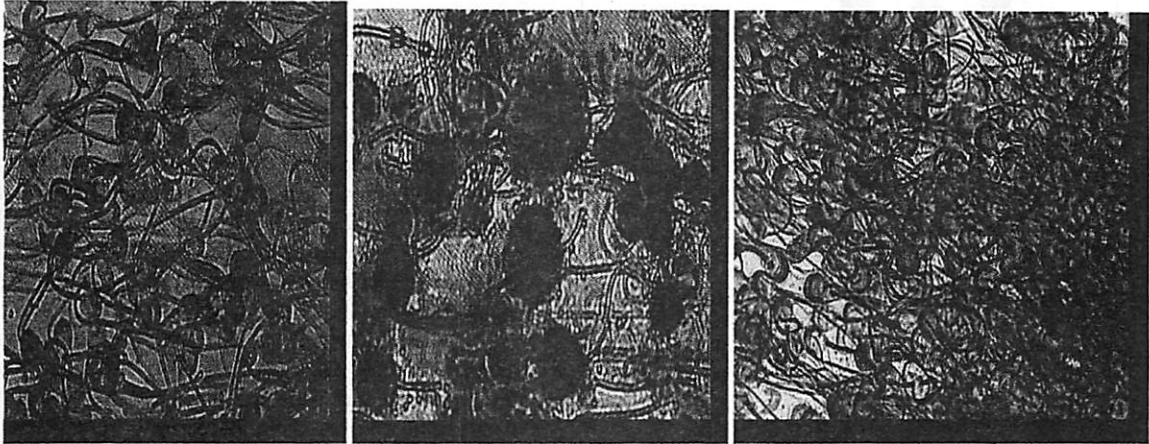
B. HASIL

1. Morfologi Sperma Epididimis Marmut

Hasil pengamatan dampak infeksi dan immunisasi protein adhesin pili *E.coli* terhadap morfologi sperma epididimis marmut disajikan pada Gambar 1. Pada

Gambar 1, tampak pada gambar bahwa pada marmut yang diimunisasi dengan protein adhesin pili E. coli BM 32.2 kDa morfologi sperma tampak normal dengan membran plasma yang utuh. Pada Gambar 2, marmut yang diinfeksi dengan E. Coli secara transuretra tampak bahwa pada sperma epididimis

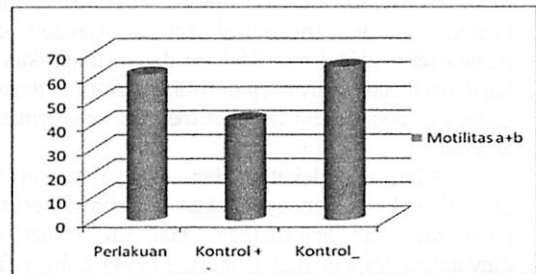
banyak dijumpai granulosit dan banyak E. Coli yang melekat ke sperma. Disamping itu tampak membran plasma sperma yang rusak. Pada Gambar 3 yaitu pada marmut kontrol morfologi sperma normal dan membran plasma sperma utuh.



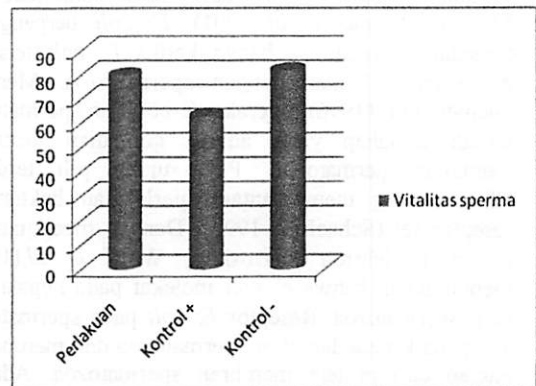
Gambar 1: Morfologi sperma marmut yang diimunisasi protein adhesin pili E. coli BM 32.2 kDa (A), sperma epididimis marmut yang diinfeksi E. coli secara transuretral (B), sperma epididimis marmut kontrol (C).

2. Motilitas, Vitalitas dan Morfologi Normal Spermatozoa Marmut

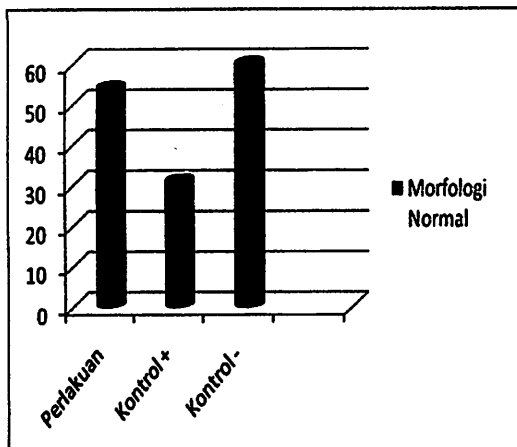
Data hasil pengamatan motilitas, vitalitas dan morfologi normal spermatozoa marmut kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif disajikan pada Gambar 2, 3 dan 4. Gambar 2 memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan motilitas antara kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif ($p=0.001$). Perbedaan tersebut terdapat antara marmut kontrol negatif dan marmut kontrol positif ($p=0.000$) dan antara kontrol positif dan perlakuan yaitu Marmut yang diimunisasi dengan adhesin pili *E. coli* BM 32.2 kDa ($p=0.001$). Sedangkan antara marmut kontrol negatif dan marmut perlakuan tidak ada perbedaan ($p=0.499$). Gambar 3. memperlihatkan perbedaan vitalitas antara kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif ($p=0.000$). Perbedaan tersebut terdapat antara marmut kontrol negatif dan marmut kontrol positif ($p=0.000$) dan antara kontrol positif dan perlakuan ($p=0.000$). Sedangkan antara marmut kontrol negatif dan marmut perlakuan tidak ada perbedaan ($p=0.817$). Gambar 4. memperlihatkan perbedaan morfologi normal antara kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif ($p=0.000$). Perbedaan tersebut terdapat antara marmut kontrol negatif dan marmut kontrol positif ($p=0.000$) dan antara kontrol positif dan perlakuan ($p=0.000$). Sedangkan antara marmut kontrol negatif dan marmut perlakuan tidak ada perbedaan ($p=0.176$).



Gambar 2. Persentase Motilitas spermatozoa pada kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif.



Gambar 3. Persentase vitalitas spermatozoa pada kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif.



Gambar 4. Persentase morfologi normal spermatozoa pada kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif.

C. PEMBAHASAN

Infeksi buatan secara transuretralis dengan *E. coli* pada Marmut (kelompok kontrol positif) dapat menurunkan kualitas spermatozoa yaitu menurunkan motilitas, vitalitas dan morfologi spermatozoa. Infeksi buatan secara transuretral secara asenden dapat menginfeksi epididimis. Hal ini dapat dibuktikan dari hasil visualisasi sperma epididimis marmut di dapatkan adanya *E. coli*. *E. coli* tersebut melekat ke spermatozoa Marmut.

Adanya perlekatan dan adanya toksin yang dihasilkan *E. coli* menyebabkan terjadinya kerusakan pada membran spermatozoa. Hal ini sesuai yang dinyatakan Monga dan Robert, (1994) bahwa faktor dari *E. coli* yang dapat menurunkan kualitas spermatozoa karena kemampuan *E. coli* melekat ke membran spermatozoa. Perlekatan tersebut dari hasil visualisasi juga tampak dari hasil penelitian ini. Menurut Aurox *et al.* (1991), *E. coli* berpengaruh terhadap spermatozoa hanya ketika *E. coli* tersebut mengadakan kontak dengan spermatozoa. Menurut Diemer *et al.* (1996), interaksi *E. coli* dan spermatozoa terjadi 2 tahap yaitu adhesi kemudian destruksi membran spermatozoa. Pada ujung pili terdapat adhesin yang memperantarai perlekatan bakteri ke reseptor sel (Schaeffer, 1998). Dengan menggunakan transmisi elektron mikroskop, Wolff *et al.* (1993) menunjukkan bahwa *E. coli* melekat pada kepala dan ekor spermatozoa. Reseptor *E. coli* pada spermatozoa ada pada kepala dan ekor spermatozoa dan merupakan bagian dari protein membran spermatozoa. Adanya perlekatan *E. coli* ke spermatozoa dapat menyebabkan perubahan integritas struktur membran spermatozoa. Menurut Hafez, (1976) secara umum membran

spermatozoa mempunyai fungsi sebagai media transport semua zat yang dibutuhkan spermatozoa. Menurut Zaneveld (1985) membran spermatozoa khususnya bagian ekor mempunyai fungsi untuk mendapatkan substrat yang dibutuhkan sebagai sumber energi dan berfungsi untuk menghantarkan gelombang gerakan. Dengan adanya perlekatan *E. coli* pada membran spermatozoa menyebabkan kerusakan membran. Kerusakan membran menyebabkan vitalitas spermatozoa menurun.

Kerusakan membran spermatozoa juga akan menimbulkan gangguan transport zat yang dibutuhkan sebagai sumber energi. Energi tersebut dibutuhkan dalam pergerakan spermatozoa, sehingga adanya gangguan sumber energi akan menyebabkan pergerakan spermatozoa terganggu. Toksin dan perlekatan *E. coli* pada spermatozoa juga berdampak negatif terhadap morfologi spermatozoa.

Infeksi Marmut yang diinfeksi secara buatan dengan *E. coli* juga menunjukkan adanya lekosit terutama makrofag pada sperma epididimis. Lekosit ini memfagosit sperma yang berdampak mempengaruhi morfologi sperma. Disamping itu lekosit ini merupakan sumber Reactive Oxygen Spesies (ROS). ROS yang dihasilkan lekosit dapat mempengaruhi kualitas sperma.

Ada beberapa mekanisme yang menjelaskan hubungan penurunan motilitas spermatozoa dengan ROS. Peroksidasi asam lemak tak jenuh pada lipid membran merupakan satu mekanisme yang sering disebut (Aitken *et al.*, 1993, Baumber *et al.*, 2000). Pada membran spermatozoa, mudah terjadi peroksidasi lipid karena kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi pada membran plasmanya. Akibat dari peroksidasi lipid adalah hilangnya asam lemak tak jenuh yang berhubungan dengan produksi radikal lipid hidroperoksida, radikal alkoksil dan radikal peroksil. Radikal ini mendukung reaksi berantai lipid peroksidasi dan menyebabkan produksi aldehyd sitotoksik seperti malondialdehyd. Tingginya konsentrasi asam lemak tak jenuh diperlukan untuk memberikan fluiditas membran plasma yang diperlukan untuk motilitas. Hilangnya integritas dapat menyebabkan bertambahnya permeabilitas membran dan hilangnya kemampuan untuk mengatur konsentrasi ion intraseluler yang terlibat dalam mengontrol pergerakan spermatozoa.

Reactive Oxygen Spesies (ROS) berpengaruh terhadap motilitas dapat juga melalui mekanisme berubahnya fungsi mitokondria. Potensial membran mitokondria digunakan sebagai ukuran fungsi mitokondria meliputi sintesis ATP, import protein mitokondria, homeostasis calcium dan transport metabolit (Baumber *et al.*, 2000). Sanocka dan Kurpisz (2004) juga menyatakan bahwa tingginya kadar ROS

berhubungan dengan penurunan potensial membran mitokondria.

Kaitan tingginya ROS dengan menurunnya motilitas spermatozoa juga dapat dijelaskan pada menurunnya fosforilasi protein axonema yang diperlukan untuk pergerakan sperma. ROS menghambat satu atau lebih enzim pada fosforilasi oksidatif, glikolisis atau keduanya yang membatasi dihasilkannya ATP oleh sperma (Baumber *et al.*, 2000). Penjelasan yang lain adalah bahwa H₂O₂ dapat berdifusi melintasi membran menghambat aktivitas enzim G6PD. Enzim ini mengontrol kecepatan aliran glukosa melalui *hexosa monospasat shunt* yang selanjutnya mengontrol tersedianya NADPH intraseluler yang digunakan sebagai sumber elektron oleh spermatozoa untuk pembakaran yang menghasilkan ROS oleh sistem enzim NADPH oksidase. Penghambatan G6PD juga mengakibatkan menurunnya NADPH dan secara bersamaan terjadi akumulasi glutatone teroksidasi menjadi glutatone tereduksi. Hal ini dapat mengurangi antioksidan (Agarwal *et al.*, 2003).

Kualitas sperma pada Marmut kelompok perlakuan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol tidak ada perbedaan. Protein adhesin pili E. coli dengan BM 32.2 kDa yang diimunisasikan pada Marmut ternyata tidak menurunkan kualitas sperma. Pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan adhesin pili E. coli BM 32.2 kDa dapat merangsang immunitas. Pada penelitian ini telah dibuktikan tidak mempengaruhi kualitas spermatozoa.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa infeksi buatan secara transuretral dengan E. coli berdampak menurunkan kualitas sperma Marmut, sedang immunisasi Marmut dengan protein adhesin pili E. coli BM 32.2 kDa tidak berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa marmut.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal A., Saleh RA., Bedaiwy MA., 2003, *Role of Reactive Oxygen Species in The pathophysiology of Human Reproduction, Fertil Steril*, 79: 829-843
- Aitken RJ., 1993., *Analysis of Lipid Peroxidation Mechanism in Human Spermatozoa*, Molecular Reproduction and Development, 35:302-315.
- Auroux MR., Jacquest,L., Mathieu D., Aurer J., 1991, *Is The Sperm Bacterial ratio a Determinating Factor in Impairment of Sperm Motility: An In Vitro Study in Man With Escherichia coli*, *Int of Andrology*,14:264-270
- Baumber, J., Ball, BA., Gravance, CG., Medina V., Davies-Morel, MCG., 2000, *The effect of Reactive Oxygen Species on Equine Sperm Motility, Viability, Acrosomal Integrity, Mitochondrial Membrane potential, and membrane lipid Peroxidationm*, *J. androl*, 21: 895-902
- Diemer T., Weidner W., Michelmann HW., Schiver HG., Rovon E., and Mayer F., 1996, *Influence of Escherichia coli on motility parameters of human spermatozoa in vitro*, *Int J of Andrology*, 19 : 271-277.
- Hafez ESE., Prasad MRN., 1976, *Functional aspect of the epididymis*, in : *Human semen and Fertility regulation in men*, First ed., St Louis, Hafez ESE., (Ed) The CV. Mosby Company, 31-42
- Khanna J., Van Look PFA, Griffin PSD., 1992, *A key to Brihter future*, Geneva, Word Organisation.
- Monga, M., Robert JA., 1994, *Spermagglutination by Bacteria: Receptor-specific Interaction*, *J of Andrology*, 15: 151-156.
- Sukarjati, 1998, *Pengaruh spesies Bakteri dan Ratio sperma / Bakteri Terhadap Kualitas sperma Manusia secara in vitro*, Thesis, Unair Surabaya
- Sukarjati, Lunardhi H., 2001 , *Pengaruh spesies Bakteri dan Ratio sperma / Bakteri Terhadap vitalitas sperma Manusia secara in vitro*, *Jurnal Penelitian Berkala Hayati*: 7 (1).
- Sukarjati, Lunardhi H., Hinting A., 2002, *Pengaruh Spesies Bakteri dan ratio Sperma / Bakteri Terhadap Motilitas Sperma Manusia secara In vitro*, *Jurnal Penelitian Berkala Hayati*., 8(1).
- Sukarjati, Lunardhi H., 2002, *Pengaruh Spesies Bakteri dan ratio Sperma / Bakteri Terhadap Kualitas Sperma Manusia secara In vitro*, Pertemuan PANDI, Denpasar, Bali .
- Sukarjati, Lunardhi H., Sujarwo, 2005, *Pengaruh Escherichia coli Terhadap Kadar ROS dan MDA pada Semen yang tercemar Escherichia coli*, Seminar Nasional Biologi, Unair, Surabaya.
- Sukarjati, Lunardhi H., Sujarwo, 2006a, *Kerusakan DNA spermatozoa karena oksidasi pada semen pria infertile yang terkontaminasi bakteri*, Seminar Nasional Biologi, Univ. Negeri Semarang, 26 Agustus 2006.
- Sukarjati, Lunardhi H., Sujarwo, 2006b, *Pengaruh semen yang terinfeksi E. coli terhadap kadar 8 hydroxy deoxy Guanosin (8 OHdG)*, Seminar Nasional Biodiversitas, Biologi UNAIR, 22 Juli 2006.
- Sukarjati, Lunardhi H., Sujarwo, 2006c, *Identifikasi Bakteri pada semen pria infertile dan pengaruhnya terhadap kerusakan DNA spermatozoa menggunakan metode HPLC dan Comet Assay*, Konggres Nasional ke VI Perhimpunan Ahli Mikrobiologi Klinik

- Indonesia, UNIBRAW, Malang, 18- 19 Nopember 2006
- Sukarjati, Lunardi H., Sujarwo, 2006d, *Pengaruh E. coli dan Enterobacter erogenes yang mengkontaminasi Semen pria infertil terhadap kadar 8OHdG dan motilitas spermatozoa*, Seminar Nasional ke XVIII Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia, Univ. Al Azhar , Jakarta, 6-7 Desember 2006.
- Sukarjati, 2008, Peran Protein Hemagglutinin Pili E. coli dan Lekosit pada mekanisme penurunan kualitas spermatozoa manusia, Disertasi
- Wolff, H., Panhans, A., Stolz, W., Mauree, M., 1993, *Adherence of Escherichia coli to Sperm : A Mannose mediated phenomenon leading to agglutination of sperm and Escherichia coli*, Fertility Sterility ,60 : 154-158.
- Zaneveld, LJD., 1985, *The Biology of Spermatozoa*, Presented In : Konggres National III PANDI, Jakarta : 15-39.