

**Infeksi *Chlamydia Trachomatis*  
Pada Penderita Karsinoma Serviks Terinfeksi  
Human Papilloma Virus (HPV) tipe 16  
Di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta**

**Indri Ramayanti**

**Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah, Palembang**

**Abstract**

*Cervical carcinoma is one of the most common malignant neoplasm among women in developing countries and remains as a major health problem world wide. In Indonesia, the incident of cervical carcinoma are around 180.000 new cases per year or 90-100 new cancers among 100.000 communities. Several studies have reported the role of HPV as an STD agent (Sexually Trasmitted Disease). Cofactor in the HPV infection accelerate up the development of infection into cancer. One of the STD cofactor is co infection with *C. trachomatis*. Infection of *C. trachomatis* is perceived as cofactor that synergated with HPV through free radical mechanism and immune system.*

*The objective of the study is to know the presence of *C. trachomatis* infection had potency for being cofactor HPV 16 in cervical carcinoma patients.*

*Twenty-three sample of cervical smear, cervical carcinoma biopsies and fresh tissue obtained from surgerydep, from DR. Sardjito Hospital, Yogyakarta. The DNA isolated of samples were amplified by PCR using primer (E6 forward and reversed) from ORF E6 HPV 16. Sample with positive DNA HPV 16 was then amplified *C. trachomatis* gen using primer (CC3/CC4) from the sequence of cryptic *Chlamydia* plasmid.*

*The research showed that from 23 cases of cervical carcinoma were obtained HPV positive type 16 with 16 cases (69,5%). From 16 cases of HPV type 16 positive cervical carcinoma, 15 cases were examined to know the presence of *C. trachomatis* and were obtained 8 cases (53,3%) as *C. trachomatis* positive.*

**Keywords:** *Cervical carcinoma, HPV 16, Chlamydia trachomatis, cofactor.*

## Pendahuluan

Karsinoma serviks merupakan jenis kanker yang paling banyak di derita oleh wanita. Diseluruh dunia karsinoma serviks menempati

posisi kedua dan termasuk lima dari kanker umum yang menyebabkan kematian pada wanita. Setiap tahun diperkirakan terdapat 500.000 kasus kanker serviks baru di seluruh dunia, dan 77 % di antaranya ada di negara-negara sedang berkembang. Di Indonesia, insiden karsinoma serviks diperkirakan sekitar 180.000 kasus baru pertahun atau 90-100 kanker baru diantara 100.000 penduduk pertahunnya dan karsinoma serviks menempati urutan pertama di antara kanker pada wanita<sup>(1)</sup>.

Angka insidensi penderita karsinoma serviks di Daerah Istimewa Yogyakarta berdasarkan umur pada tahun 1992 adalah 7,69 tiap 100.000 penduduk, sedangkan di Kota Yogyakarta mencapai 13,97 tiap 100.000 penduduk<sup>(2)</sup>. Data di RSUP Dr Sardjito pada tahun 1996 menunjukkan bahwa dari 174 penderita karsinoma ginekologi, 67% nya (118 penderita) adalah penderita karsinoma serviks baru. Sebagian besar dari penderita tersebut masuk ke rumah sakit dalam stadium lanjut (79,1%) dan tipe histopatologi menunjukkan bahwa 14,1% adalah tipe sel adeno sedangkan 80,5% tipe sel skuamosa karsinoma<sup>(3)</sup>.

Penyebab karsinoma serviks adalah multifaktorial antara lain adalah riwayat penyakit menular seksual, kontak seksual pertama kali pada usia muda dan multipatner. Faktor resiko yang lain misalnya adalah status sosial ekonomi yang

rendah, penggunaan kontrasepsi oral, merokok dan multiparitas. Penemuan lebih lanjut dalam biologi molekuler menunjukkan bahwa HPV berperan dalam patogenesis karsinoma serviks<sup>(4),(5)</sup>.

Ada 3 grup HPV berdasarkan sifat onkogeniknya pada mukosa anogenital yaitu tipe *high risk* (tipe 16,18,45,56), *intermediate* (31, 33, 35, 51, 52, 54) dan *low risk* (6, 11,42, 43, 44). Secara global, HPV tipe 16 bersamaan dengan tipe 18 dapat menyebabkan 70% dari seluruh kejadian karsinoma serviks<sup>(6)</sup>.

Kofaktor pada infeksi HPV tampak mempercepat perkembangan sel kanker. Salah satunya koinfeksi dengan *C. trachomatis*. Infeksi *Chlamydia trachomatis* diduga sebagai kofaktor yang bekerja sinergis dengan HPV melalui mekanisme radikal bebas dan sistim imun. Sejak tahun 1990-an, infeksi *Chlamydia trachomatis* yang merupakan penyakit hubungan seksual (PHS) tersering, menggantikan posisi *N. gonorrhoeae*. Suatu studi kasus kontrol, mendapatkan hubungan antara karsinoma serviks dengan 4 penyebab utama PHS yaitu HPV (*Human Papilloma Virus*), CMV (*Cytomegalovirus*), HSV-2 (*Herpes Simplex Virus 2*) dan *C. trachomatis*. Risiko *cervical intraepithelial lesion* (CIN) III meningkat dengan meningkatnya titer antibodi *C. trachomatis*<sup>(7)</sup>. Hal ini didukung oleh studi lain yang mendapatkan bahwa risiko karsinoma serviks menjadi bermakna jika pada infeksi HPV juga ditemukan peningkatan titer antibodi HSV-

2 dan *C. trachomatis*. Di sisi lain, seroepidemiologis menunjukkan hubungan yang tidak bermakna antara infeksi *C. trachomatis* dengan karsinoma serviks dan sebagai faktor risiko yang tidak tergantung untuk terjadinya CIN<sup>(8), (9), (10)</sup>. Di Indonesia prevalensi *Chlamydia* menempati urutan tertinggi diantara penyakit akibat hubungan seksual (PHS) yang lain, bahkan pada kelompok resiko tinggi mencapai angka 73,7%<sup>(11)</sup>. Dari laporan hasil penelitian prevalensi infeksi saluran reproduksi pada wanita penaja seks komersil (PSK) dari beberapa lokasi di Indonesia tahun 2005, untuk prevalensi infeksi *Chlamydia* berkisar antara 33 sampai 62%<sup>(12)</sup>.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya infeksi *Chlamydia trachomatis* yang berpotensi sebagai kofaktor HPV tipe 16 pada penderita karsinoma serviks.

## Metode

### 1. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional.

### 2. Waktu dan Tempat Penelitian

#### a. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan November 2007 sampai dengan Februari 2008.

#### b. Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di RSUP Dr. Sardjito di bagian kebidanan dan kandungan. Isolasi DNA dan PCR

dilakukan di Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Biologi Molekuler FK UGM, data diagnosa pasti karsinoma serviks diperoleh dari hasil pemeriksaan histopatologi Laboratorium Patologi Anatomi, FK UGM /RSUP Dr. Sardjito, Yogyakarta.

### 3. Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah pasien karsinoma serviks yang bersedia ikut serta dalam penelitian ini dengan menandatangani *informed consent*.

### 4. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah tabung polypropylene 1,5ml, termos berisi *ice pack*, freezer -70°C, refrigerator 4°C, gunting jaringan, pinset, tip 10, 20 dan 100 µl, mikropipet, timbangan, homogenizer, mikrosentrifus, vorteks, spinner, inkubator, PCR mikrotube, Amplitron II, *thermocycler* (PE 9600), spektrofotometer, *microwave*, run elektroforesis, UV transluminator. Sedangkan untuk bahan antara lain usapan serviks, jaringan segar hasil biopsi dan operasi penderita karsinoma serviks (23 sampel), Kontrol positif berasal dari sel SiHa (koleksi Laboratorium Pusat Kedokteran Tropis FK UGM), *TriPure Isolation Reagent* (Roche), akuades, etanol (Merck), kloroform (Merck), natrium hidroksida (Merck), sodium sitrat. *Faststart PCR Master* (Roche), primer spesifik untuk amplifikasi gen penyandi E6 HPV 16 (Sigma), primer spesifik untuk amplifikasi gen penyandi *Chlamydia*

*trachomatis* (Eurogentec Ait), distilled water (Invitrogen), buffer TAE 1/2x, agarose (Roche), ethidium bromida (Bio-rad), DNA marker 100 bp (Invitrogen), parafilm (Novix II), DNA loading buffer.

## 5. Jalannya Penelitian

### a. Pengumpulan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari usapan serviks, jaringan segar hasil biopsi dan operasi karsinoma serviks yang dilakukan oleh dokter spesialis Obstetri dan Ginekologi di RSUP Dr. Sardjito. Sampel tersebut dimasukkan ke tabung polypropylene 1,5ml tanpa penambahan apapun, kemudian disimpan didalam freezer  $-70^{\circ}\text{C}$ , untuk selanjutnya dilakukan isolasi DNA.

### b. Seleksi sampel

Diagnosa pasti karsinoma serviks diperoleh dari hasil pemeriksaan histopatologi oleh ahli Patologi Anatomi RSUP Dr. Sardjito/FK UGM.

### c. Isolasi DNA dari jaringan karsinoma

Menggunakan prosedur *TriPure Isolation Reagent* (TIR) melalui langkah-langkah sebagai berikut: Jaringan digerus, setelah jaringan halus ditambahkan 1 ml *TriPure Isolation Reagent* (TIR), lalu dimasukkan ke dalam tabung, dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000xg selama 10 menit pada suhu  $2^{\circ}\text{C}$ -  $8^{\circ}\text{C}$ . Jika ada lapisan lemak pada hasil setrifugasi, maka harus dibuang. Supernatan yang berada dilapisan atas segera dipindahkan ke

tabung yang baru. Sampel tersebut diinkubasi selama 5 menit pada suhu  $15^{\circ}\text{C}$ -  $25^{\circ}\text{C}$ . Kedalam tabung ditambahkan 0,2 ml kloroform, tabung ditutup dan dicampur selama 15 menit dan diinkubasi lagi pada suhu  $15^{\circ}\text{C}$  -  $25^{\circ}\text{C}$  selama 2-15 menit. Dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000xg selama 15 menit pada suhu  $2^{\circ}\text{C}$  -  $8^{\circ}\text{C}$ . Hasil larutan akan menjadi 3 lapisan. Lapisan paling atas yang merupakan lapisan jernih dipindahkan ke tabung lain, karena pada penelitian ini tidak digunakan. Lapisan tengah diambil dan dimasukkan ke tabung dan di presipitasi dengan menambahkan etanol absolut sebanyak 0,3ml. Tabung ditutup dan dibolak-balik sehingga larutan tercampur dengan baik. Sampel tersebut diinkubasi selama 2-3 menit pada suhu  $15^{\circ}\text{C}$  -  $25^{\circ}\text{C}$ , kemudian disentrifugasi kecepatan 2.000xg selama 5 menit. Supernatan yang mengandung fenol, etanol dan protein dibuang dengan cara dituang. Pelet yang menempel pada dasar tabung dicuci supaya bersih dari sisa fenol dengan menambahkan 0,1M sodium sitrat pada 10% sebanyak 1ml. Sampel kembali diinkubasi selama 30 menit pada suhu  $15^{\circ}\text{C}$  -  $25^{\circ}\text{C}$ , sambil dilakukan pencampuran dengan menggunakan vorteks, dan disentrifugasi dengan kecepatan 2.000xg selama 5 menit. Supernatan yang ada kembali dibuang. Langkah ini diulang sebanyak 2 kali (untuk total pencucian 3 kali sodium sitrat atau etanol). Setelah mendapatkan pelet DNA yang cukup bersih, pelet kemudian dicuci kembali dengan menambahkan 1,5 - 2ml etanol 75%.

Larutan diinkubasi selama 10 – 20 menit pada suhu 15°C – 25°C, setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 2.000xg selama 5 menit. Supernatan dibuang dengan cara dituang. Sisa etanol dari pelet DNA dikeringkan dengan memasukkan tabung (tutup tabung dibuka) ke dalam inkubator 37°C selama 10 menit. Pelet yang didapat dilarutkan dengan cara menambahkan 0,3 – 0,6ml 8 mM NaOH. Jika larutan DNA mengandung *insoluble material*, maka larutan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000xg selama 10 menit, lalu supernatan yang jernih atau yang mengandung DNA dipindahkan ke tabung yang baru. Kemudian dilakukan pengukuran spektrofotometer pada panjang gelombang 260nm dan 280nm, untuk mengetahui ada tidaknya DNA dan konsentrasinya.

Untuk mengetahui kualitasnya, gen-aktin diamplifikasi dari DNA sampel menggunakan primer *forward* 5'TGAAGT ACC CCA TGC AGC AC 3' dan primer *reverse* 5' AAG GGT GTA ACG CAA CTA AG 3' (koleksi laboratorium pusat kedokteran tropis) dengan teknik PCR. Kondisi PCR untuk mengamplifikasi gen ini adalah 95°C selama 5 menit untuk denaturasi awal, dilanjutkan dengan 35 siklus denaturasi, *annealing*, dan ekstensi dengan suhu masing-masing 95°C selama 40 detik, 55°C selama 40 detik dan 72°C selama 15 detik, diakhiri dengan ekstensi akhir 72°C selama 10 menit.

#### d. Penentuan positivitas HPV tipe 16 dengan metode *type spesific* PCR

Penentuan positivitas HPV 16 dengan cara mengamplifikasi gen E6 (522 bp) dari DNA total (isolat) yang telah diisolasi dari jaringan karsinoma serviks dengan teknik PCR. Untuk mengamplifikasi gen E6 HPV 16 dibutuhkan satu pasang primer dengan urutan: *forward* 5' CGA AAC CGG TTA GTA TAA 3' dan *reverse* 5' GTA TCT CCA TGC ATG ATT 3'. Sebagai kontrol positif HPV 16 digunakan sel SiHa dan kontrol negatif *distillated water* tanpa pemberian isolat DNA.

Kondisi dari campuran PCR sebagai berikut : 25µl *Faststart PCR Master* (Roche), 5µl Primer E6 *forward* (Sigma), 5µl E6 *reverse* (Sigma), 10ul *distillated water* (invitrogen), terakhir 5µl DNA sampel ditambahkan ke dalam masing-masing tabung. Sehingga total reaksi 50µl. Kondisi reaksi amplifikasi adalah denaturasi awal selama 5 menit pada suhu 95°C; tiap siklus terdiri atas denaturasi selama 1 menit pada suhu 95°C, *annealing* selama 1 menit pada suhu 55°C, dan ekstensi selama 1 menit 30 detik pada suhu 72°C. Tahap ekstensi diperpanjang hingga 5 menit. Untuk memeriksa hasil reaksi amplifikasi, produk PCR dielektroforesis pada gel agarose 2%.

#### e. Amplifikasi DNA *Chlamydia trachomatis*

Untuk mengetahui apakah HPV tipe 16 mengandung DNA *C. trachomatis* atau tidak, dalam penelitian ini diamplifikasi dengan pemeriksaan PCR

menggunakan primer *cryptic Chlamydia plasmid* yaitu primer *forward* 5' TAG TAA CTG CCA CCT CAT CA 3' dan primer *reverse* 5' TTC CCC TTG TAA TTC GTT GC 3'.

Kondisi dari campuran PCR sebagai berikut : 12,5µl *Faststart PCR Master* (Roche), 2,5µl Primer E6 *forward* (Sigma), 2,5µl E6 *reverse* (Sigma), 5µl *distillated water* (invitrogen), terakhir 2,5 µl DNA sampel ditambahkan ke dalam masing-masing tabung. Sehingga total reaksi 25µl. Kondisi reaksi amplifikasi adalah denaturasi awal selama 5 menit pada suhu 95°C; tiap siklus terdiri atas denaturasi selama 1 menit pada suhu 95 °C, *annealing* selama 1 menit pada suhu 55°C, dan ekstensi selama 1 menit 30 detik pada suhu 72°C. Tahap ekstensi diperpanjang hingga 5 menit. Untuk memeriksa hasil reaksi amplifikasi, produk PCR dielektroforesis pada gel agarose 2%.

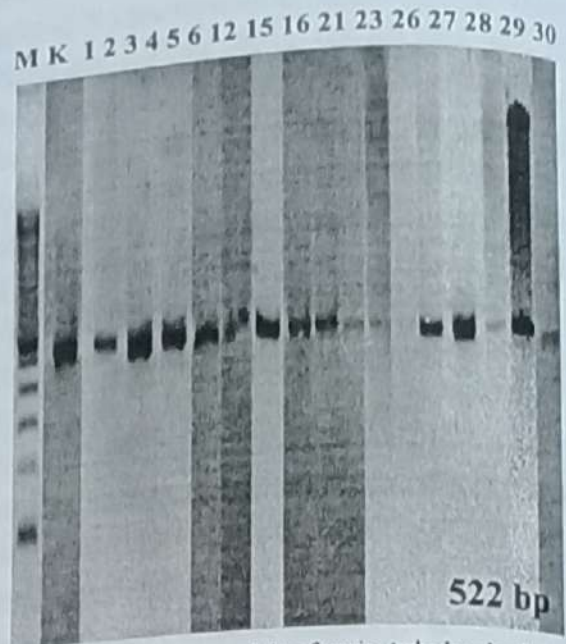
## 6. Analisis Hasil

Analisis hasil pada penelitian ini dengan analisis deskriptif.

### Hasil Amplifikasi Gen E6 untuk Menentukan Positivitas HPV tipe 16

Untuk mengetahui adanya virus DNA HPV 16 di dalam sampel dilakukan amplifikasi gen E6 yang merupakan gen penyandi protein E6 dari virus tersebut. Dari 23 kasus karsinoma serviks yang menjalani pemeriksaan PCR, didapatkan sebanyak 16 kasus (69,5%) sampel positif mengandung gen E6 HPV 16, dengan munculnya pita DNA sebesar 522 bp.

Hasil amplifikasi gen ORF E6 HPV 16 dapat dilihat pada gambar 1. (*line*). No 1-30 : sampel penderita karsinoma serviks.



Gambar 1. Pemeriksaan elektroforesis terhadap hasil PCR ekspresi gen E6 HPV tipe 16.

Keterangan :

M : Petanda ukuran 100 bp.

K : Kontrol positif HPV tipe 16 (SIHA *cell line*).

No 1-30 : sampel penderita karsinoma serviks.

Pola distribusi HPV berhubungan dengan karsinoma serviks memiliki kesamaan pada berbagai negara dunia, yaitu 60-65% positivitas untuk HPV 16, 2-20% untuk HPV 18, 4-5% untuk HPV 31 dan HPV 45, serta prevalensi yang sangat rendah pada HPV tipe lain

### 1. Hubungan Infeksi HPV 16 dengan hasil pemeriksaan patologi anatomi

Pada penelitian ini diperoleh hubungan infeksi HPV 16 dengan hasil pemeriksaan patologi anatomi penderita

karsinoma serviks, yang dapat dilihat pada tabel 1. Distribusi lesi jaringan karsinoma serviks yang terdapat pada penelitian ini adalah, karsinoma epidermoid 16 kasus (73,91%), adeno karsinoma 4 kasus (17,39%) dan karsinoma adenoskuamous 2 kasus (8,69%). HPV 16 banyak terdapat pada karsinoma epidermoid (68,75%). Menurut Bosch *et al.*, (1995), bahwa HPV 16 terdeteksi dalam 68 % karsinoma epidermoid<sup>(13)</sup>.

Tabel 1. Hubungan infeksi HPV tipe 16 dengan status patalogi anatomi

	Kelompok	Kasus		HPV 16	
		Σ	(%)	Σ	%
Jenis HPA	Karsinoma epidermoid	17	73,91	11	68,75
	Adenokarsinoma	4	17,39	3	18,75
	Karsinoma Adenoskuamusa	2	8,69	2	12,5
Diferensiasi histopatologik	Baik	5	21,73	3	18,75
	Sedang	7	30,43	5	31,25
	Jelek	5	21,73	2	12,5
	Tanpa differensiasi	6	27,27	6	37,5
Stadium klinik	Stadium I	2	8,69	1	6,25
	Stadium II	11	47,82	10	62,5
	Stadium III	5	21,73	1	6,25
	Stadium IV	1	4,34	-	-
	Tanpa stadium	4	17,39	4	25,0

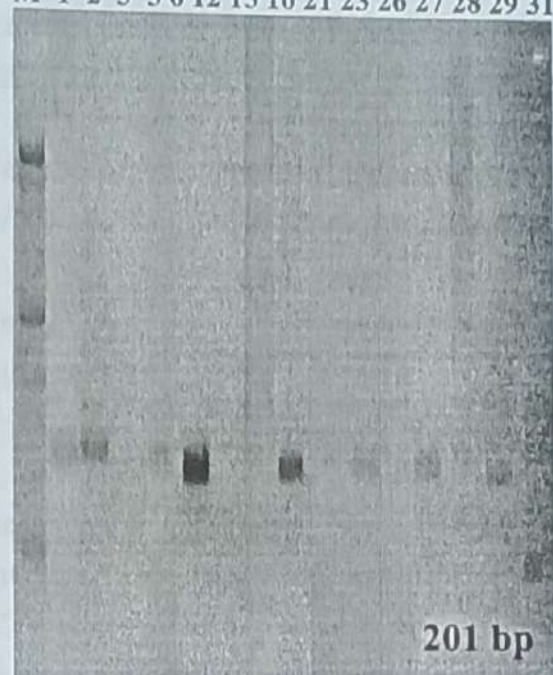
### 1. Amplifikasi Gen Penyandi *Chlamydia trachomatis*

Amplifikasi gen *Chlamydia trachomatis* dilakukan dengan pemeriksaan PCR. Band produk PCR hasil amplifikasi gen *C. trachomatis* diperkirakan sesuai dengan 201 bp, dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada penelitian ini dari 16 kasus karsinoma serviks yang positif HPV 16, sebanyak 15 kasus yang menjalani pemeriksaan PCR, karena satu kasus tidak berhasil dilakukan isolasi DNA.

Didapatkan dari 15 kasus yang positif HPV tipe 16 sebanyak 8 kasus yang positif *C. trachomatis* atau sekitar 53,3%, hal ini kemungkinan pada kasus yang negatif *C. trachomatis* diduga peran kofaktor lain seperti merokok, penyakit menular seksual seperti *Herpes Simplex Virus* tipe 2, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, hormon, stress dan status imun, yang tampak mempercepat perkembangan sel kanker<sup>(14)</sup>.

M 1 2 3 5 6 12 15 16 21 23 26 27 28 29 31



Gambar 2. Pemeriksaan elektroforesis terhadap hasil PCR ekspresi gen *C. trachomatis*.

Keterangan:

M : Petanda ukuran 100 bp.

No 1- 30 : sampel penderita karsinoma serviks yang positif HPV 16.

Menurut Darmaja *et al* (2001), Epitel serviks pada zona transformasi sangat sensitif terhadap respon eksternal sehingga

mudah terjadi metaplasia. Metaplasia ini dapat berpotensi ganas bila kontak dengan agen seperti *C. trachomatis*, virus Papova termasuk bahan lain terjadi pada fase aktif atau pada fase awal metaplasia. Juga oleh infeksi HPV terutama HPV tipe 16 dan 18 yang ditularkan lewat kontak seksual pada zona transformasi. Selain itu, merokok, aktivitas seksual, peradangan serviks ataupun trauma, status imunitas dan umur dapat membentuk lesi intraepitel skuamosa, yang selanjutnya dapat menimbulkan kanker skuamosa yang invasive<sup>(15)</sup>.

Infeksi *C. trachomatis* dapat meningkatkan kerentanan terhadap HPV pada tingkat seluler dengan cara :

- 1) meningkatkan akses HPV pada epitel basal melalui mikro abrasi atau melalui pengrusakan sel epitel
- 2) meningkatkan *viral load* HPV
- 3) memfasilitasi terjadinya persistensi HPV antara lain pergeseran respon imun dimana pada infeksi *C. trachomatis* melalui respon imun humoral (Th2), sedangkan HPV melalui respon imun seluler (Th1). Sehingga pada infeksi HPV yang dipengaruhi *Chlamydia* menyebabkan respon imun humoral lebih dominan dibandingkan respon imun seluler, hal ini menyebabkan terjadinya persistensi HPV<sup>(16)</sup>.

### Simpulan Dan Saran

Dari penelitian ini dapat disimpulkan adanya infeksi *Chlamydia trachomatis* pada penderita karsinoma serviks terinfeksi HPV tipe 16 yaitu sebesar 53,3%.

Pada penelitian lebih lanjut dapat dilakukan pemeriksaan peran kofaktor lain pada virus HPV, khususnya pada kelompok HPV resiko tinggi, yang dapat meningkatkan risiko terjadinya karsinoma serviks.



## Daftar Pustaka

1. Samsuddin, S. 2001 Pencegahan dan Deteksi Dini Kanker Serviks. *Cermin Dunia Kedokteran*. 133:8-13.
2. Soeripto. 1998. Epidemiology of the Uterine Cervix Carcinoma. Presented in Part, Development of Vaccination for Cancer Viral Disease An Approach to Molecular Biology as Prevention and Therapy Conference. Inter University Center for Biotechnology UGM. Yogyakarta. On: 18-28 November 2007.
3. Warsito, B., 1997. Advance Cervical Cancer Management in Indonesia. *National Seminar of Detection of Human Papillomavirus in Cervical Cancer by Biology Molecular Approach*. Center of Tropical Medicine, Yogyakarta, Indonesia. On: 22-27 Maret 2007.
4. Bosch, F.X., Manos, M., Munoz, N., Sherman, M., Jensen, A.M., Peto, J., Schiffman, M.H., Moreno, V., Kurman R., and Shah K.V. 1995. Prevalence of Human Papillomavirus in Cervical Cancer, a Worldwide Perspective. *J Natl Cancer Inst*. 87(11):796-802.
5. Zur Hausen, H. 1991. Human Papillomavirus in the Pathogenesis of anogenital cancer, *J. Virol*. 184:9-13.
6. Howley, P.M. and Shah, K, V., 1996. Papillomavirinae: The viruses and their replication. In Fields, B.N., Knipe, D.M., and Holey, P.M.(eds). *Virology* 3<sup>rd</sup> (ed).2045-2075.
7. De Sanjose, S., Munoz, N., Tafur, L., Bosch, F.X., Gili, M., Izarzugaza, I., Izquierdo, A., Navarro, C., Munoz, M.T., Ascunce, N., and Shah, K.V. 1996. Sexually Transmitted Agents and Cervical Neoplasia in Colombia and Spain. *Am J Public Health*. 86(11):1532-1538.
8. Anttila, T., Saikku, P., Koskela, P., Bloigu, A., Dillner, J., Ikaheimo, I., Jellum, E., Lehtinen, M., Lenner, P., Hakulinen, T., Narvanen, A., Pukkala, E., Thoresen S., Youngman L., Paavonen, J., *al*. 2001. Serotype of *Chlamydia trachomatis* and Risk for Development of Cervical Squamous Cell Carcinoma. *JAMA*. 285(1):47-51.
9. Garland, SM., Tabrizi, SN., Chen, S., Byambaa, C., Davaajav, K. 2001. Prevalence of Sexually Transmitted Infection (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* and *Human papillomavirus*) in Female Attendees of a Sexually Transmitted Diseases Clinic in Ulaanbaatar, Mongolia. *Infect Dis Obstet Gynaecol*.9(3):143-6.
10. Zenilman, J.M. 2002. *Chlamydia* and cervical cancer a real association. *JAMA* 285(1):34-39.
11. Arifin, S. 2007. Tingginya Angka Infeksi Saluran Reproduksi pada Kelompok Risiko Rendah. <http://www.ipin4u.esmartstudent.com/>

- infeksi.htm. Last accessed: 21 Agustus 2007.
12. **Sedyaningsih, E.** 2005. Laporan Hasil Penelitian Prevalensi Infeksi Saluran Reproduksi Pada Wanita Penjaja Seks Di Bandung, Jawa Barat, Indonesia. 25-30.
13. **Bosch, F. X.**, 2003. Epidemiology of Human papillomavirus Infections: New Options for Cervical Cancer Prevention. *Salun Publica de Mexico*. 45(3): 362-339.
14. **Williamson, A.** 1999. *Human Papillomaviruses (wart viruses)*. <http://web.uct.ac.za/depts/mmi/jmoodie/hpv.html>. Last accessed: 31 Mei 2008.
15. **Darmaja, I.G.N., Suwiyoga, K and Artha, I.G.A.** 2004. Risiko Lesi Intraepitel Skuamosa Serviks Derajat Tinggi pada Penderita Terinfeksi Virus Human Papiloma 16 dan 18. *Cermin Dunia Kedokteran*. 145:13-16.
16. **Samoff, E., Koumans, E. H., Markowitz, L. E., Sternberg, M., Sawyer, M.K., Swan, D., Papp, R.J., Black, C.M and Unger, E.R.** 2005. Association of *Chlamydia trachomatis* with Persistence of High-Risk Types of Human Papillomavirus in a Cohort of Female Adolescents. *Am J Epidemiol*. 162:668-675.