

# PENGARUH VARIASI DIET ZAT BESI DAN TEMPE TERHADAP KADAR KOLESTEROL, TRIGLISERIDA DAN PEROKSIDA LEMAK DALAM SERUM TIKUS\*

Oleh:

Mary Astuti\*\*)

## Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh variasi zat besi dan tempe dalam diet terhadap kadar kolesterol, trigliserida dan peroksida lemak dalam serum tikus. Sumber protein pakan adalah kasein dan tempe. Tikus putih jantan umur sapih (strain Wistar) sebanyak 36 ekor dibagi menjadi enam kelompok dan diberi pakan diet I, II, III IV, V dan VI. Diet I dan II dibuat dari protein kasein yang disubstitusi tempe sebanyak 10 dan 20%, diet III dan V sumber proteinnya kasein sedang diet IV dan VI sumber proteinnya adalah tempe. Kandungan zat besi dalam diet berturut-turut sebanyak 26, 22, 43, 36, 110, dan 103 ppm untuk diet I, II, III, IV, V, dan VI. Percobaan dilakukan selama satu bulan dan pada akhir percobaan tikus dibunuh dan dianalisis kandungan kadar kolesterol serta trigliserida dalam serum menggunakan Kit, peroksida lemak dalam serum menggunakan metoda TBA.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa semakin besar jumlah tempe dalam diet, semakin rendah kadar kolesterol dan kadar MDA dalam serum. Semakin tinggi kandungan zat besi dalam pakan berpengaruh terhadap konsumsi pakan meningkatnya kadar kolesterol, trigliserida dan MDA. Hasil percobaan ini memperkuat potensi tempe di dalam mencegah oksidasi lemak dan efek tempe di dalam menurunkan kadar kolesterol darah. Konsumsi zat besi yang berlebihan memberikan dampak yang kurang baik.

## Pendahuluan

Zat besi merupakan zat gizi yang sangat penting artinya bagi kehidupan manusia. Zat besi merupakan komponen hemoglobin yang berfungsi untuk mengikat oksigen dan membawa oksigen ke dalam sel, serta membawa karbon dioksida sebagai hasil sisa

metabolisme untuk dikeluarkan melalui paru-paru (Gutrie, 1983). Zat besi juga merupakan komponen berbagai enzim seperti katalase, xantin oksidase dan lain sebagainya yang berperan pada berbagai reaksi metabolisme.

Semenjak adanya laporan oleh Boggs dan Morris pada tahun 1909 (Rao dan Larkin, 1984) pengambilan darah berulang-ulang pada kelinci menyebabkan lipemia, perhatian para peneliti tentang hubungan zat besi dengan metabolisme lemak meningkat. Lipemia sebagai akibat dari defisiensi zat besi ditandai oleh meningkatnya kadar trigliserida dalam darah dan hati. Kadar kolesterol dan fosfolipid ada yang melaporkan meningkat tetapi ada yang melaporkan tetap (Amine dan Hegsted, 1971). Meningkatnya kadar trigliserida dalam hati dan serum darah disebabkan karena menurunnya fungsi enzim stearoyl desaturase CoA (Rao dkk., 1983). Enzim tersebut berfungsi dalam sintesis asam lemak berantai sangat panjang.

Lemak yang disusun oleh asam lemak tidak jenuh berikatan rangkap, mudah mengalami oksidasi bila ada oksigen (Feher dkk., 1987). Oksigen merupakan unsur yang sangat penting dalam kehidupan manusia. Tanpa oksigen manusia tidak bisa hidup, namun oksigen juga dapat merugikan manusia bila direduksi menjadi radikal bebas ( $O_2^-$ ). Radikal bebas oksigen secara normal terjadi selama proses metabolisme dan dalam keadaan normal tubuh mempunyai

\*\*) Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.

sistim pertahanan yang dapat mencegah terjadinya oksidasi lemak karena adanya radikal bebas. Sistim pertahanan tubuh tersebut melalui enzim katalase, superoksida dismutase, glutation peroksidase, vitamin E, vitamin C, vitamin A, mineral selenium dan seng (Mills, 1989).

Radikal bebas oksigen dalam sistim biologis kurang reaktif untuk merusakkan senyawa organik yang menyusun membran sel, namun dengan adanya logam transisi seperti zat besi dan tembaga yang mengkatalisis pembentukan radikal bebas OH yang bersifat sangat reaktif mengakibatkan oksidasi lemak dengan menghasilkan senyawa sederhana seperti malondialdehida (MDA) yang beracun. MDA diketahui sebagai senyawa yang bersifat karsinogenik dan mutagenik (Yagi, 1982).

Zat besi dalam bentuk senyawa organik kompleks tidak mampu mengkatalisis reaksi oksidasi, namun adanya enzim xantin osidase mampu melepaskan zat besi dari ikatan senyawa organik kompleks terutama feritin (Thomas dkk., 1985). Zat besi bebas tersebut berperan dalam oksidasi lemak.

Dugaan bahwa peroksida lemak merupakan salah satu senyawa yang bertanggung jawab terhadap timbulnya penyakit degeneratif seperti penyakit jantung koroner, diabetes, aterosklerosis semakin besar dengan bertambahnya kematian karena penyakit jantung. Di Indonesia pada tahun 1971, penyakit jantung mempunyai urutan nomer 10 sebagai penyebab kematian namun sejak tahun 1988 menjadi nomer 3 (BPS, 1990). Pemerintah berupaya untuk menurunkan penyebab kematian karena jantung dengan menggali bahan pangan yang kaya antioksidan, bernilai gizi tinggi dan dapat dipakai untuk mencegah oksidasi lemak.

Tempe kedelai merupakan bahan makanan sumber protein, asam lemak esensial dan juga mineral makro maupun mikro

seperti kalsium, fosfor dan zat besi. Georgy dkk., (1964) menemukan adanya senyawa antioksidan isoflavonoid dalam tempe. Packett dkk., (1977) melaporkan bahwa tempe yang ditambahkan dalam minyak jagung dapat mencegah oksidasi minyak dibandingkan dengan vitamin E yang ditambahkan dalam minyak jagung yang disimpan tersebut. Jha dkk., (1990) menerangkan bahwa isoflavonoid dapat membentuk senyawa kompleks dengan zat besi sehingga dapat mencegah zat besi dalam mengkatalisis pembentukan radikal bebas hidroksil. Penelitian secara *in vivo* tentang peranan tempe maupun zat besi dalam tempe pada metabolisme dan peroksidasi lemak belum banyak diungkapkan. Mengingat bahwa tempe merupakan salah satu makanan yang banyak dikonsumsi di Indonesia dan direkomendasikan oleh pemerintah sebagai sumber zat besi untuk mencegah anemi perlu didukung oleh penelitian bagaimana kaitan antara zat besi, tempe dan metabolisme serta oksidasi lemak.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengungkapkan peranan tempe maupun zat besi dalam metabolisme dan oksidasi lemak. Tempe dapat diaplikasikan sebagai salah satu makanan bergizi tinggi yang mampu mencegah oksidasi lemak sehingga dapat mengurangi penyebab kematian karena penyakit jantung koroner.

### **Metode Penelitian**

#### ***Bahan Penelitian***

Bahan dasar untuk penelitian adalah kedelai lokal jenis wilis yang diperoleh dari balai benih di Wonosari, Gunung Kidul. Usar bubuk diproduksi oleh LIPI Bandung diperoleh dari Primkopti Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan adalah bahan kimia yang dibeli dengan merk BDH, Wako dan Merck. Tikus putih jantan umur sapuh diperoleh dari laboratorium hewan percobaan (UPHP), UGM.

### **Alat Penelitian**

Peralatan yang dipakai pada penelitian ini adalah alat-alat untuk hewan percobaan, freeze dryer untuk mengeringkan tempe. AAS untuk analisis zat besi, spektrofourometer untuk analisis peroksida lemak, satu unit mikrokjeldahl untuk analisis protein, spektrofotometer untuk analisis kolesterol dan trigliserida.

### **Jalan Penelitian**

#### *Pembuatan tempe dan tepung tempe*

Kedelai yang telah dibersihkan, dicuci dalam aquades bebas ion kemudian direbus selama 20 menit. Air rebusan dibuang, kedelai direndam dalam aquades bebas ion dengan perbandingan 1 bagian kedelai dengan 3 bagian air. Perendaman dilakukan dalam suhu ruang selama 24 jam. Kemudian air rendaman dibuang, kedelai dikuliti dengan tangan sampai semua kulit ari dapat dipisahkan. Kedelai tak berkulit direndam lagi semalam dalam aquades bebas ion, kemudian dikukus selama 60 menit. Kedelai yang telah masak tersebut diangin-anginkan dan dituntaskan airnya. Setelah suhu massa kedelai mencapai 30°C, diinokulasi dengan usar bubuk sebanyak 2 gram setiap kg kedelai. Usar dicampurkan pada biji kedelai hingga rata kemudian kedelai dimasukkan ke dalam Petri dish dan diinokulasikan pada suhu kamar selama 48 jam. Setelah fermentasi, kedelai yang berwarna kuning muda akan ditutupi oleh miselia jamur yang berwarna putih dengan tekstur yang sangat kompak. Tempe yang diperoleh selanjutnya dikukus selama 5 menit, diperkecil ukurannya dalam blender kemudian dikeringkan dalam freeze dryer selama 48 jam pada suhu -60°C, selanjutnya ditepungkan dan diayak.

#### *Pembuatan pakan*

Dibuat enam variasi pakan dengan sumber protein kasein dan tempe dengan kandungan zat besi yang berbeda. Variasi

yang pertama adalah pakan yang dibuat dari protein kasein yang ditambah tempe sebanyak 10% pakan kedua dibuat dari protein kasein ditambah tempe 20%. Pakan ke tiga dan ke lima dibuat dari protein kasein sedangkan pakan ke empat dan keenam dari protein tempe. Kandungan protein semua pakan dirancang sebanyak 20%. Kandungan zat besi dalam pakan I, II, III, IV, V dan VI dirancang sebanyak 20, 20, 40, 40, 120, dan 120 ppm. (hasil analisis menunjukkan kandungan zat besi sebanyak 26, 22, 43, 36, 110 dan 103 ppm untuk diet I, II, III, IV, V dan VI).

#### *Percobaan dengan hewan*

Tikus putih jantan, strain Wistar umur saphi sebanyak 36 ekor dibagi menjadi 6 kelompok, tiap kelompok terdiri atas 6 ekor tikus. Tiap ekor tikus sebelum diberi pakan ditimbang beratnya dan dikelompokkan secara acak. Pakan setiap hari diganti, pakan dan aquades bebas ion disediakan tak terbatas. Jumlah pakan yang dimakan dicatat yaitu merupakan jumlah yang disediakan dikurangi dengan sisa yang tidak dimakan. Dilakukan penimbangan berat tikus sehingga kenaikan berat badan setiap 3 hari dapat dihitung. Pada akhir percobaan tikus dipuaskan selama 12 jam, darah tikus diambil dari bagian ekor sebanyak 0.05 ml dan dianalisis kandungan peroksida lemak, selanjutnya tikus dibunuh dengan cara mengambil darah dari jantung dan darah ditampung dalam tabung kemudian disentrifugasi untuk mendapatkan serum. Serum yang diperoleh disimpan dalam suhu pembeku sebelum dipakai untuk analisis trigliserida dan kolesterol.

#### *Analisis kimia*

Analisis kimia meliputi protein pada tempe maupun pakan dengan metoda mikrokjeldahl, kadar lemak dalam tempe dan pakan dengan metode ekstraksi solvent, kadar zat besi dalam tempe dan pakan dengan metode AAS. Peroksida dalam

serum dianalisis dengan metode asam tiobutirat (TBA). Kolesterol dan trigliserida dalam serum dianalisis dengan reagen Kit (Merckotest).

#### Analisis data

Semua data dikumpulkan kemudian dianalisis menggunakan analisis varians, apabila ada perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan Newman-Keuls Range Test.

#### Hasil dan Pembahasan

Hasil percobaan hewan yang berupa jumlah pakan yang dikonsumsi dan kenaikan berat badan terdapat pada Tabel 1, Kolesterol dan trigliserida dalam serum dalam gambar 1 dan peroksida lemak dalam serum dalam gambar 2.

#### Konsumsi Pakan dan Kenaikan Berat Badan

Jumlah konsumsi pakan selama percobaan terdapat pada Tabel 1, terlihat bahwa tikus diberi pakan diet IV menunjukkan konsumsi yang paling banyak yaitu sebesar 240,73 gr setiap ekor tikus. Diet IV disusun oleh protein tempe dan dari hasil ini dapat dikatakan bahwa tempe cukup disukai tikus. Penambahan zat besi berlebihan dalam diet menurunkan konsumsi pakan seperti terlihat pada dalam diet V dan VI. Nampaknya kadar zat besi yang tinggi dalam pakan berpengaruh terhadap sifat organoleptik yaitu memberikan rasa logam sehingga

menurunkan nafsu makan tikus.

Kenaikan berat badan yang dinyatakan sebagai kenaikan berat (g) per ekor tikus, g/g pakan dan g/g protein, paling tinggi dicapai pada tikus grup I yaitu yang diberi pakan diet I yaitu diet yang disusun oleh protein kasein dicampur dengan 10% tempe, sedangkan paling rendah terdapat pada grup V yaitu tikus yang diberi pakan diet V. Kombinasi antara protein kasein dan protein tempe dapat meningkatkan kualitas proteinnya terbukti bahwa kenaikan berat badan pada tikus yang diberi pakan diet III (protein kasein) dan IV (tempe) lebih rendah dari grup I. Protein tempe yang tergolong dalam protein nabati mempunyai protein efficiency ratio (PER) lebih kecil dibandingkan dengan kasein. Menurut Muramatsu dan Ashida (1987), PER yang merupakan salah satu parameter kualitas protein ditentukan pada kadar 10%. Apabila kadar protein kedelai dalam diet sebanyak 17,5% maka kenaikan berat badan untuk setiap gram pakan ataupun protein akan sama dengan protein kasein pada kadar 20%. Pada percobaan ini kandungan protein dalam diet IV yang disusun oleh tempe sebanyak 21% sedangkan pada diet III yang disusun oleh protein kasein sebanyak 19,5%. Hasil penelitian ini mendukung hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Muramatsu dan Ashida (1987). Kadar zat besi yang tinggi dalam pakan memberikan efek negatif terhadap kenaikan berat badan seperti terlihat pada tikus V dan VI.

Tabel 1. Konsumsi pakan dan kenaikan berat badan

Grup Tikus	Konsumsi (g)	Kenaikan Berat Badan		
		g/ekor	g/g protein	g/g pakan
I	240,07 ± 6,79	117,63 ± 6,90	2,248 ± 0,02	0,492 ± 0,02
II	233,55 ± 9,15	110,65 ± 5,91	1,958 ± 0,07	0,473 ± 0,07
III	179,13 ± 1,17	66,06 ± 1,29	1,853 ± 0,05	0,363 ± 0,05
IV	240,73 ± 10,35	92,90 ± 5,37	1,841 ± 0,01	0,384 ± 0,01
*V	177,26 ± 5,29	54,82 ± 1,12	1,623 ± 0,01	0,310 ± 0,01
VI	220,98 ± 3,94	79,93 ± 2,12	1,669 ± 0,01	0,362 ± 0,01

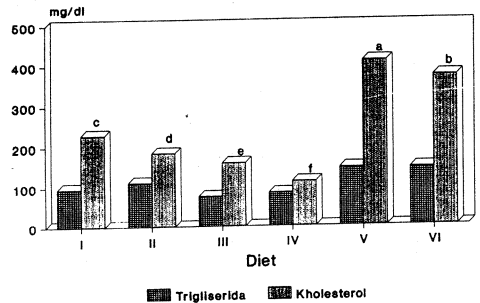
Hasil rata-rata dari 6 ekor tikus ± SE, \* n = 5.

## Kadar Kolesterol dan Trigliserida

Kadar kolesterol dan trigliserida darah terdapat dalam Gambar 1, terlihat bahwa adanya penambahan zat besi akan meningkatkan kadar kolesterol darah. Kadar kolesterol pada grup V lebih tinggi dibandingkan dengan grup III dan pada grup IV lebih tinggi daripada grup III. Efek zat besi terhadap peningkatan kadar kolesterol belum diketahui secara jelas mekanismenya, namun diduga bahwa adanya zat besi yang berlebihan akan berpengaruh terhadap metabolisme kolesterol. Kadar kolesterol paling rendah terdapat dalam grup IV yaitu tikus yang diberi diet dengan sumber protein tempe. Grup tikus yang diberi pakan diet III (kasein) mempunyai kadar kolesterol yang lebih tinggi daripada grup IV. Hal ini menunjukkan bahwa jenis protein dalam diet akan berpengaruh terhadap metabolisme lemak. Dengan menggunakan teknik perfusi secara in situ Sugano dkk., (1982) mendapatkan bahwa tikus yang diberi pakan protein kedelai akan meningkatkan aktivitas enzim 3-hidroksi-3 metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) reduktase di dalam hati, meningkatkan oksida kolesterol dan pengeluaran steroid ke dalam tinja. Gambar 1 menunjukkan bahwa semakin besar jumlah tempe yang ditambahkan semakin rendah kandungan kolesterolnya. Hasil percobaan ini mendukung hasil percobaan yang dilakukan oleh Mangkuwidjono dkk., (1985) yang melaporkan bahwa tempe bersifat hipokholesterolemia.

Kadar trigliserida pada diet rendah dan tinggi zat besi sedikit lebih tinggi daripada diet normal, walaupun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Menurut Rao dkk (1983) zat besi merupakan komponen enzim stearyl CoA desaturase yang berperan pada sintesis asam lemak berantai panjang. Apabila jumlah zat besi kurang maka enzim tersebut kurang berfungsi sehingga terjadi sintesis dan penimbunan trigliserida dalam serum maupun hati.

Menurut Bartholmey dan Sherman (1985), penimbunan lemak dapat pula terjadi sebagai akibat rendahnya kadar karnitin. Karnitin adalah senyawa yang menstansi transfer gugus asil dan asetil dari mitokondria ke sitoplasma dan sebaliknya. Zat besi ferro diperlukan pada sintesis karnitin dengan demikian apabila terjadi kekurangan zat besi maka sintesis karnitin terganggu dan mengakibatkan pembentukan energi dari asam lemak terhambat, sebagai akibatnya asam lemak tersebut akan disintesis kembali menjadi trigliserida dan terakumulasi dalam serum maupun hati. Mekanisme mengenai efek kelebihan zat besi terhadap akumulasi trigliserida dalam serum belum diketahui secara jelas.

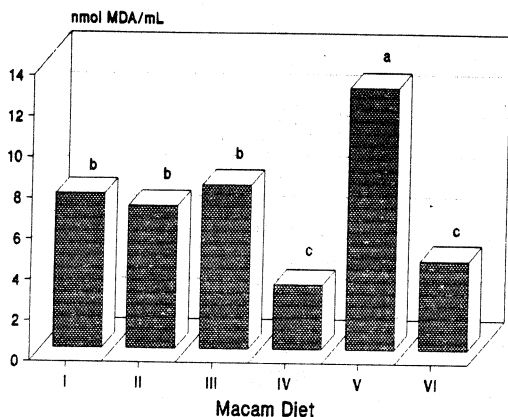


Gambar 1. Trigliserida dan kolesterol  
Hasil rata-rata  $\pm$  SE. Tanda huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $P < 0,05$

## Peroksida Lemak

Peroksida lemak yang dinyatakan sebagai kadar malondialdehida (MDA) dalam serum tikus terdapat dalam Gambar 2. Hasil percobaan menunjukkan bahwa kadar MDA dalam serum paling rendah pada grup tikus yang diberi pakan dengan sumber protein tempe (diet IV). Pada gambar 2 terlihat bahwa semakin besar jumlah tempe dalam pakan semakin rendah kadar MDA. Tempe merupakan hasil fermentasi

yang, mengandung senyawa antioksidan alam vitamin E dan senyawa isoflavonoid. Dibuktikan oleh Jha dkk., (1990) isoflavonoid merupakan antioksidan yang mampu mengikat zat besi. Dengan demikian zat besi yang telah terikat tersebut tidak mampu mengkatalisis reaksi pembentukan hidrogen peroksida yang bersifat reaktif. Mary Astuti (data tidak dipublikasikan) mendapatkan bahwa aktivitas enzim superoksida dismutase pada tikus yang diberi pakan tempe lebih besar dibandingkan dengan diet kasein. Superoksida dismutase adalah enzim yang mampu menetralkan radikal bebas oksigen, enzim ini tergolong sebagai "scavenging antioxidant". Hasil percobaan ini memperkuat hasil penelitian Packett dkk., (1971), dengan demikian potensi tempe sebagai antioksidan tidak hanya secara *in vitro* tetapi juga secara *in vivo*. Dalam Tabel 3 terlihat bahwa grup tikus yang diberi pakan dengan diet zat besi berlebihan kadar MDA lebih tinggi dibandingkan dengan diet zat besi normal. Grup VI mempunyai kadar MDA dalam serum dan hati yang lebih tinggi daripada grup IV, demikian pula grup V mempunyai MDA yang lebih tinggi daripada grup III.



Gambar 2. Peroksida lemak dalam serum. Harga rata-rata  $\pm$  SE (n = 4). Tanda huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada  $P < 0,05$

## Kesimpulan

Hasil percobaan menunjukkan bahwa semakin besar jumlah tempe dalam diet, semakin rendah kadar kolesterol dan peroksida lemak dalam serum. Semakin tinggi kandungan zat besi dalam pakan berpengaruh terhadap konsumsi pakan, kenaikan berat badan, meningkatnya kadar kolesterol dan trigliserida. Hasil percobaan memperkuat potensi tempe di dalam menurunkan kolesterol dan mencegah oksidasi lemak.

## Daftar Pustaka

- Amine, E.K. and D.M. Hegsted, 1971. Iron deficiency lipemia in the rat and chick. *J. Nutr* 101:1575 — 1585.
- Bartholmey, S.J., and A.R. Sherman, 1985. Carnithine levels in iron-deficient rat pups. *J. Nutr* 115:138 — 145.
- Biro Pusat Statistik, 1990. Statistik Indonesia. BPS, Jakarta.
- Feher, J., G. Csomos and A. Vereckei, 1985. Free radical reactions in medicine. Springer-Verlag, Berlin.
- Georgy, P., K. Murata and H. Ikehata, 1964. Antioxidants isolated from fermented soybeans. *Nature*:203 — 870.
- Guthrie, H.A., 1983. Introductory Nutrition. 5th ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis, Toronto, London.
- Jha, H.C., Bockemul and H. Egge, 1990. Adrimycin-induced mitokondrial lipid peroxidation and its inhibition by tempe isoflavonoids and their derivatives. A paper presented on second Asian symposium on non-salted soybeans fermentation, held in Jakarta Feb. 13 — 15.
- Muramatsu, K and K. Ashida, 1962. Relationship between the nutritive value of dietary protein and liver xanthine oxidase activity in young rats. *Agric. biol Chem* 26(1):25 — 29.

- Packett, L.V., L.H Chen and J.Y. Liu, 1971. Antioxidant potential of tempeh as compared to toæopherol. *J. Food Sci* 36: 798—799.
- Mangkuwidjoyo, S., Djoko Pranowo, Sutjipto Nitisuwiryo dan Zuheid Noor, 1985. Pengamatan daya hipokolesterolemik pada tempe. Makalah yang disampaikan pada: Simposium Pemanfaatan Tempe dalam Peningkatan Upaya Kesehatan dan Gizi di Jakarta.
- Mills, E.J., 1989. The role of zinc in lipid peroxidation. CRC Press Inc.
- Rao, G.A., R.T crane and E.C. Larkin, 1983. Reduction of hepatic steroyl CoA desaturase activity in rats fed ion-deficient diets. *Lipid* 18:573 — 575.
- Rao, G.A., and E.C. Larkin, 1984. Role of dietary iron in lipid metabolism. *Nutr. Research* 4:145 — 151.
- Rao, G.A., R.T Crane and E.C. Larkin, 1984. Role of dietary iron in lipid metabolism. *Nutr. Research* 4:145 — 151.
- Sugano, M., K. Tanaka and T. Ide, 1982. Secretion of cholesterol, triglyceride and apolipoprotein A-1 by isolated perfused liver from rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures. *J. Nutr.* 112:855 — 862.
- Thomas, C.E., L.E. Morehouse and S.D. Auts, 1985. Ferritin and superoxide-dependent lipid peroxidation. *J. of Biol Chem* 260(6) 3275 — 3280.
- Yagi, K, 1982. Lipid peroxides in biology and medicine. Academic press. New York, London.

### DAFTAR PENGIRIM WESEL FEBRUARI — APRIL 1993

- |                                 |                  |
|---------------------------------|------------------|
| 1. Ir. Agus Haryanto            | — Bandar Lampung |
| 2. Ir. Fina Sylvania            | — Surabaya       |
| 3. Ir. M.A. Anton Suryadi       | — Surabaya       |
| 4. Ir. Witono Basuki            | — Jakarta        |
| 5. Ir. Djati Yuniarto           | — Surabaya       |
| 6. Poly Teknik Pertanian UNDANA | — Kupang         |
| 7. Ir. Suryatmi                 | — Pontianak      |
| 8. Ir. Tavip Priyono            | — Jakarta        |
| 9. Ir. Ranno Armunanto          | — Muntilan       |
| 10. Ir. Rosy Anggrahini         | — Jakarta        |
| 11. Ir. Endro Pudjiarto         | — Tegal          |
| 12. Ir. Nugroho T. Waskito      | — Malang         |
| 13. Ir. Sudaryatno              | — Semarang       |
| 14. UPT Perpustakaan UNSOED     | — Purwokerto     |
| 15. Dr. Djumali                 | — Bogor          |
| 16. Ir. Sri Rejeki R.P.         | — Bogor          |