

PENDUGAAN MODEL RANCANGAN CAMPURAN-CAMPURAN DENGAN PETAK TERBAGI

Ani Andriyati

Program Studi Matematika FMIPA Universitas Pakuan

ABSTRACT

Mixture-mixture design with a split plot was proposed for simultaneously two mixture systems. The complete model was formed by multiplying cubic models for two systems. The design was applied to the simultaneous optimizations of both mobile phase chromatographic mixtures and extraction mixture for the *Phyllanthus niruri* L. In this experiment used split plot approach. Saturated model coefficients were hypothesized with confident interval 99%. Reduction model consisted of real coefficients in complete coefficient models. Estimation method of reduction model coefficients consisted of Ordinary Least Square (OLS) and Generalized Least Square (GLS). Models were formed to count sum peaks chromatographic at 225, 254, and 260 nm. RMSEP values in OLS method at wavelength 225, 254, and 260 nm were produced 4.122, 3.049, and 2.56, otherwise RMSEP values in GLS method were 3.99, 2.79, and 3.18. There are component indicators in wavelength greater and more complex.

Key words : *Mixture-mixture design, OLS, GLS, split plot*

PENDAHULUAN

Obat herbal merupakan salah satu jenis obat yang sering dikonsumsi masyarakat terutama di Indonesia. Data BPS menunjukkan bahwa pada tahun 2008 persentase penduduk Indonesia yang menggunakan obat tradisional mencapai 22,26 %. Tingginya minat masyarakat terhadap penggunaan obat herbal menjadi perhatian bagi pelaku industri obat herbal. Pemilihan tanaman obat yang berkualitas akan berdampak pada kualitas obat herbal yang dihasilkan. Penggunaan sidik jari kromatografi merupakan salah satu pendekatan efektif untuk mengontrol kualitas obat herbal.

Sidik jari yang informatif dapat diperoleh melalui optimisasi faktor yang mempengaruhi waktu retensi, resolusi, jumlah puncak serta luas puncak kromatografi. Beberapa faktor tersebut diantaranya meliputi pelarut ekstraksi, fase gerak kromatografi cairan kinerja tingkat tinggi (KCKT), serta deteksi panjang gelombang (Wahyuni, 2010). Faktor pelarut ekstraksi dan faktor fase gerak

kromatografi merupakan suatu campuran senyawa kimia pada beberapa proporsi komposisi senyawa.

Rancangan campuran-campuran merupakan suatu rancangan dapat digunakan untuk kombinasi dari dua campuran seperti pada percobaan sidik jari kromatografi. Prinsip pengacakan pada rancangan petak terbagi digunakan untuk mengatasi kendala teknis seperti jumlah unit percobaan yang terlalu besar. Pengacakan dilakukan terhadap petak utama terlebih dulu kemudian diikuti pengacakan terhadap anak petak.

Optimisasi faktor pelarut ekstraksi dan faktor fase gerak kromatografi dapat dipandang dari dua segi yaitu pemilihan panjang gelombang dan pemilihan metode pendugaan parameter yang tepat. Pemilihan panjang gelombang didasarkan nilai RMSEP terkecil pada model pendugaan campuran-campuran setiap panjang gelombang. Pada penelitian ini difokuskan pada pemilihan metode pendugaan parameter untuk panjang gelombang tertentu. Pendugaan parameter

Pendugaan Model Rancangan Campuran-Campuran Dengan (*Ani Andriyati*)

rancangan campuran-campuran dapat dilakukan dengan beberapa cara. Naes et al (2006) mengemukakan bahwa nilai parameter dapat diperoleh dengan metode *Ordinary Least Square* (OLS) dan metode *Generalized Least Square* (GLS).

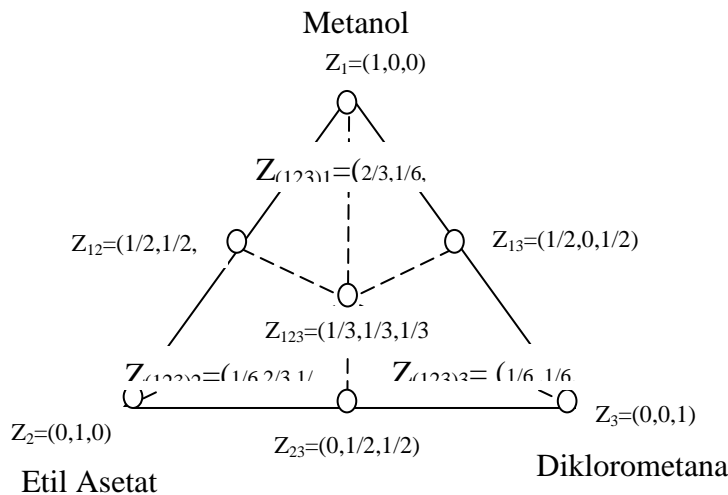
Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pendugaan parameter yang tepat pada setiap panjang gelombang.

METODOLOGI PENELITIAN

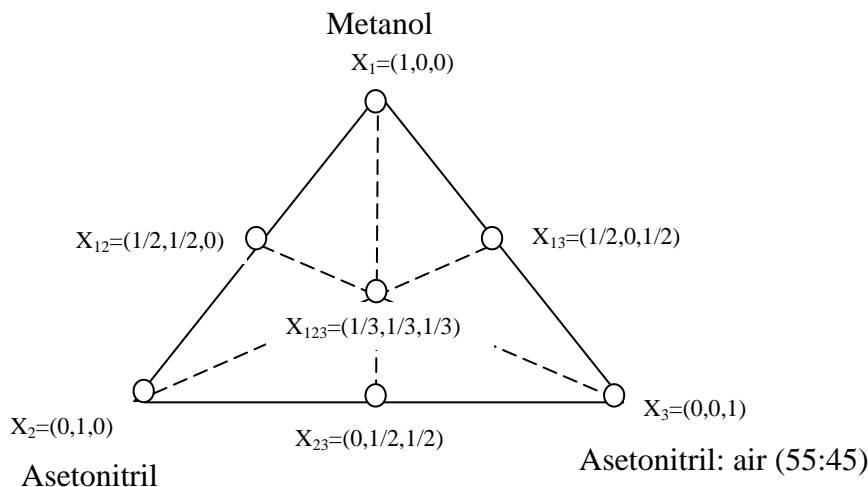
Data yang digunakan berupa jumlah puncak kromatografi ekstrak tanaman meniran pada panjang gelombang 210, 225, 254, 260, dan 270 nm yang berasal dari penelitian Wahyuni (2010). Data respon pada penelitian ini terdiri dari data

70 puncak kromatografi (Y) pada panjang gelombang 210, 225, 254, 260, dan 270 nm yang dihasilkan dari struktur rancangan campuran-campuran dengan pendekatan petak terbagi.

Rancangan terdiri atas dua faktor yaitu faktor pelarut ekstraksi sebagai petak utama dan faktor fase gerak sebagai anak petak. Faktor pelarut ekstraksi terdiri dari tiga komponen yaitu methanol, etil asetat, diklorometana (Z_1, Z_2, Z_3) pada 10 macam proporsi seperti pada Gambar 1. Faktor fase gerak terdiri dari komponen methanol, asetonitril dan asetonitril:air (55:45) (X_1, X_2, X_3) pada 7 macam proporsi seperti pada Gambar 2.



Gambar 1 Komposisi petak utama (Pelarut Ekstraksi).



Gambar 2 Komposisi anak petak (Fase Gerak Kromatografi).

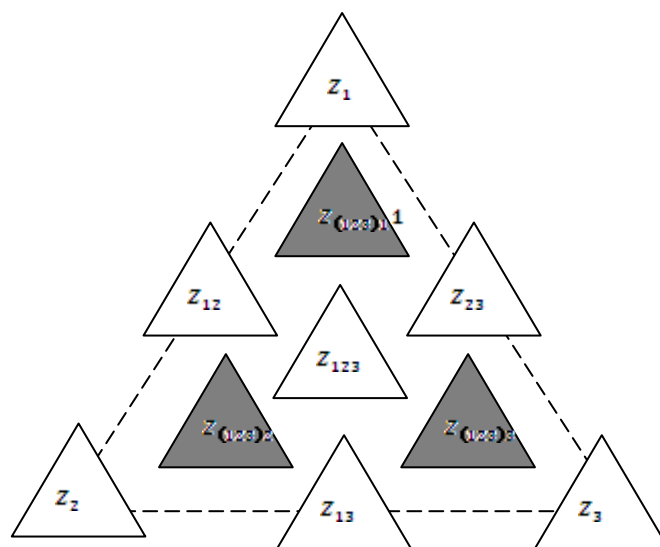
Data disusun dalam bentuk *simplex-centroid* sebagai petak utama yang mengandung sepuluh segitiga kecil sebagai anak petak (Gambar 3). Data dibagi menjadi dua kelompok pada setiap panjang gelombang. Data pada sisi dan pusat *simplex* digunakan untuk membangun model disebut data kalibrasi. Data pada segitiga titik aksial digunakan untuk validasi model

Data kalibrasi terdiri dari 49 puncak kromatografi (Y) yang dihasilkan dari 7 komposisi proporsi campuran ekstraksi ($Z_1, Z_2, Z_3, Z_{12}, Z_{13}, Z_{23}, Z_{(123)}$) dan 7 komposisi proporsi campuran fase gerak ($X_1, X_2, X_3, X_{12}, X_{13}, X_{23}, X_{123}$). Sedangkan data validasi terdiri dari 29 puncak kromatografi (Y) yang dihasilkan dari 3 komposisi proporsi campuran ekstraksi ($Z_{(123)1}, Z_{(123)2}, Z_{(123)3}$) dan 7 komposisi proporsi campuran fase gerak ($X_1, X_2, X_3, X_{12}, X_{13}, X_{23}, X_{123}$).

Jumlah puncak kromatografi dihitung menggunakan kromatogram. Hasil kromatogram sidik jari KCKT ekstrak etil asetat meniran pada panjang puncak yang dihitung ialah puncak yang memiliki rasio sinyal terhadap derau ≥ 3 dan nilai resolusi ≥ 1 (Wahyuni, 2010)

Analisis Data

- a. Menyiapkan matriks data **Z**, **X**, dan **Y**.
 - b. Membagi matriks data menjadi dua bagian, matriks data kalibrasi dan matriks data validasi.
 - c. Menghitung koefisien model lengkap pada 49 titik puncak kromatografi dari matriks data kalibrasi dengan persamaan polinomial Shceffe.
 - d. Menghitung nilai t-hitung untuk setiap koefisien.
 - e. Menduga ragam petak utama (fase ekstraksi) dan ragam anak petak (fase gerak).
 - f. Menghitung rasio ragam galat petak utama dengan ragam anak petak.
 - g. Mereduksi koefisien model lengkap dengan batasan nilai t-tabel pada $\alpha = 1\%$ disebut dengan koefisien model tereduksi dengan metode OLS.
 - h. Menduga koefisien model tereduksi dengan metode GLS
- Membangun matriks $V = \sigma_{pu}^2 J + \sigma_{ap}^2 I$, dengan **J** adalah matriks berukuran $n \times p$ dengan 1 pada diagonal matrik petak utama dan nol lainnya, sedangkan **I** adalah matriks identitas berukuran $n \times p$. (n=jumlah data pengamatan; p=jumlah parameter)



Gambar 3 Rancangan Campuran-Campuran Petak Terbagi

- Membangun matriks **X** baru berukuran $n \times p$ dengan n adalah jumlah data pengamatan, p merupakan parameter pada $\alpha = 1\%$.
- Membangun matriks $\text{Cov}(\mathbf{b}_{\text{GLS}}) = (\mathbf{X}^t \mathbf{V}^{-1} \mathbf{X})^{-1}$
- Menduga parameter $\mathbf{b}_{\text{GLS}} = (\mathbf{X}^t \mathbf{V}^{-1} \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^t \mathbf{V}^{-1} \mathbf{y}$
- Menduga komponen ragam
- Menghitung nilai uji t setiap koefisien GLS
- Pemilihan koefisien yang layak dengan uji t pada $\alpha = 1\%$.
- i. Mengevaluasi model menggunakan RMSEC dan RMSEP dengan rumus (Naes et al, 2002):

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_p} (\hat{y}_v - y_i)^2}{N_p}}$$

dan

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_c} (\hat{y}_c - y_i)^2}{N_c}}$$

Keterangan:

\hat{y}_v : jumlah puncak kromatografi dugaan validasi

\hat{y}_c : jumlah puncak kromatografi dugaan kalibrasi

y_i : jumlah puncak kromatografi aktual

N_p : ukuran contoh validasi

N_c : ukuran contoh kalibrasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemilihan Panjang Gelombang

Model parameter kombinasi lengkap (49 kombinasi) pada 5 panjang gelombang yaitu 210, 225, 254, 260, dan 270 nm ditentukan dengan menghitung koefisien dari persamaan rancangan campuran-campuran petak terbagi. Kombinasi interaksi respon yang

Pendugaan Model Rancangan Campuran-Campuran Dengan (Ani Andriyati)

digunakan dalam model adalah kombinasi yang nyata $\alpha = 1\%$ dengan jumlah derajat bebas sama dengan jumlah parameter yaitu 49 kombinasi. Jumlah kombinasi yang nyata pada panjang gelombang 221, 225, 254, 260, dan 270 masing-masing 29, 26, 18, 24, dan 19 parameter kombinasi.

Nilai ragam galat petak utama dan galat anak petak galat dari model petak terbagi dengan parameter koefisien yang nyata pada setiap panjang gelombang diduga dengan metode REML. Nilai dugaan ragam petak utama dan anak petak serta rasio ragam galat pada masing-masing panjang gelombang ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Ragam dan Rasio Ragam Galat

Panjang Gelombang (nm)	Panjang gelombang dengan rasio		
	$\hat{\sigma}_{pu}^2$	$\hat{\sigma}_{ap}^2$	$\hat{\sigma}_{pu}^2 / \hat{\sigma}_{ap}^2$
210	0	3.963	0
225	0.054	2.493	0.022
254	0.083	2.266	0.037
260	0.504	2.040	0.247
270	0	3.234	0

ragam galat lebih dari nol yang selanjutnya dibuat model pendugaannya dengan metode OLS dan GLS. Dari Tabel 1 diperoleh bahwa model pendugaan yang akan dicari yaitu panjang gelombang 225, 254, 260 nm

Model Pendugaan OLS untuk Panjang Gelombang 225, 254 dan 260 nm

Nilai koefisien kombinasi campuran yang nyata pada model lengkap dihitung dengan dua metode yaitu OLS dan GLS. Nilai koefisien yang dihasilkan menggunakan metode OLS adalah sama dengan nilai koefisien model lengkap (49 kombinasi) tetapi tidak mengikutsertakan koefisien dengan kombinasi lainnya yang tidak nyata terhadap uji t pada selang kepercayaan 99%. Dengan tidak

mengikursertakan kombinasi yang tidak nyata tidak mengurangi informasi statistik, hal ini ditunjukkan dengan nilai RMSEP mendekati model penuh (49 kombinasi) seperti pada Tabel 2.

Tabel 2 Nilai RMSEP Metode OLS dan Model Kombinasi Lengkap

Panjang Gel (nm)	RMSEP		
	Lengkap	OLS	GLS
225	3.991	4.122	4.788
254	2.792	2.580	2.964
260	3.183	3.049	0.475

Model Pendugaan GLS untuk Panjang Gelombang 225, 254 dan 260 nm

Pengujian dengan selang kepercayaan 99% dilakukan pada koefisien yang dihasilkan dengan perhitungan GLS. Pada panjang gelombang 225 nm terdapat 14 kombinasi interaksi yang memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah puncak kromatografi, sedangkan pada panjang gelombang 254 dan 260 nm terdapat masing-masing 18 dan 19 kombinasi interaksi yang nyata.

Dari ketiga panjang gelombang dua panjang gelombang yaitu 225 dan 254 nm menunjukkan metode OLS lebih baik karena galat yang dihasilkan metode OLS lebih kecil dibandingkan dengan galat dari metode GLS. Dua panjang gelombang ini memiliki rasio ragam galat yang sangat kecil, sedangkan pada panjang gelombang 260 nm memiliki nilai rasio ragam galat lebih besar yaitu 0.247 (Tabel 1). Hal ini diperkuat dengan nilai RMSEP untuk panjang gelombang 225 dan 254 lebih kecil bila menggunakan metode

OLS dari pada metode GLS. Nilai RMSEP setiap metode untuk setiap

panjang gelombang ditampilkan pada Tabel 3. Sebaliknya, nilai RMSEP metode GLS pada panjang gelombang 260 lebih kecil dari metode OLS.

Tabel 3 Nilai RMSEP Metode Lengkap, OLS, dan GLS

Model	Prediksi	Jumlah	Puncak
Panjang Gel.(nm)	Jml kombinasi	RMSEP	
		OLS	Lengkap
225	26	4.122	3.991
254	18	2.580	2.792
260	24	3.049	3.183

Kromatografi

Berdasarkan nilai galat (RMSEP pada Tabel 3) pada panjang gelombang 225 dan 254 model prediksi yang dipilih adalah model dari metode OLS, sedangkan pada panjang gelombang 260 nm model yang digunakan untuk memprediksi jumlah puncak adalah model dengan 19 kombinasi GLS. Hal ini digunakan dengan pertimbangan nilai RMSEP paling kecil yang menjadi model optimum. Dengan demikian model optimum rancangan campuran-campuran untuk panjang gelombang 225, 254 dan 260 nm seperti pada Tabel 4

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pembahasan dapat disimpulkan bahwa pada panjang gelombang 225 dan 254 model komposisi optimum diperoleh dengan menggunakan metode OLS sedangkan pada panjang gelombang 260 nm model komposisi optimum diperoleh dengan menggunakan metode GLS.

Tabel 4 Model optimum pada panjang gelombang 225, 254 dan 260 nm

Panjang Gelombang (nm)	Model kombinasi optimum
225	$Y = 4.374x_1z_1 + 1.531z_1x_3 + 19.306x_1z_1x_3 + 9.077x_1z_2 + 10.471z_2x_2 + 11.511x_3z_2 + 24.477x_1z_2x_2 + 18.841 x_1x_3z_2 + 96.068x_1x_3z_2x_2 + 10.011x_1z_3 + 10.01x_2z + 38.249x_3z_3 + 45.076x_1x_2z_3 - 12.143x_1x_3z_3 - 12.863x_3x_2z_3 - 222.709x_1x_3x_2z_3 - 99.237x_1z_1x_3z_2 + 14.66x_1z_1z_3 + 75.239x_1z_1x_2z_3 - 92.169x_1z_1x_3z_3 + 36.713x_1z_2z_3 + 19.081z_2x_2z_3 - 76.027 x_1z_2x_2z_3 - 137.42x_1x_3z_2z_3 - 69.586 x_3z_2x_2z_3 - 79.221x_1z_1z_2z_3$
254	$Y = 7x_1z_1 + 6x_2z_1 + 4x_3z_1 + 7x_1z_2 + 6x_2z_2 + 20x_3z_2 + 30x_1x_2z_2 - 22x_1x_3z_2 - 135x_1x_2x_3z_2 + 14x_1z_3 + 5x_2z_3 + 6x_3z_3 + 26x_1x_2z_3 - 24x_1x_3z_3 - 36x_3z_1z_2 + 22x_2z_2z_3 - 36x_3z_2z_3 - 80x_1x_2z_2z_3$
260	$Y = 8.336 x_1z_1 + 4.603 x_2z_1 + 11.684 x_1z_2 + 5.363 x_2z_2 + 17.444 x_3z_2 + 16.885 x_1x_2z_2 - 25.225 x_1x_3z_2 - 122.545 x_1x_2x_3z_2 + 14.348 x_1z_3 + 4.787 x_2z_3 + 6.893 x_3z_3 + 30.885 x_1x_2z_3 - 32.025 x_1x_3z_3 - 19.754x_3z_1z_2 + 22.032 x_2z_2z_3 - 27.508 x_3z_2z_3 - 40.487 x_1x_2z_2z_3 - 85.74x_2x_3z_2z_3 - 95.842 x_1z_1z_2z_3$

DAFTAR PUSTAKA

Borges C, Burns ER, Almeida AA, Scarminio IS . 2007. Mixture-mixture Design for the Fingerprint Optimization of Chromatographic Mobile Phases and Extraction Solutions for *Camellia sinensis*. *ScienceDirect* 595:28-37.

Montgomery, D.C. 2002. *A User Guide To Multivariate Calibration and Classification*. Chichester, UK: NIR Publications.

Naes T, Isaksson T, Fearn T, Davies T . 2002. *A User Guide To Multivariate Calibration and Classification*. Chichester, UK: NIR Publications.

Naes T, Aastveit AH, Sahni NS. 2006. Analysis of split –plot design: an overview and comparison of methods. *J Qual Reliab Engng Int* 23:801-820.

Wahyuni, WT. 2010. Optimisasi dan Validasi Sidik Jari Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi Ekstrak (*Phyllanthus niruri* L). [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

