

IDENTIFIKASI FOKUS MIKROSKOP DIGITAL MENGUNAKAN METODE OTSU

*Ari Bawono**, Kusworo Adi dan Rahmat Gernowo

Jurusan Fisika, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi Penulis, Email: ari.bawono.putranto@fisika.undip.ac.id

Abstract

A study to identify focus on a digital microscope has been done using a threshold value of the object microscope image obtained by Otsu method. Microscope image of the object captured by the change from a maximum to a minimum distance between the object and the microscope objective lens to record the amount of movement of a motor stepper and calculates the Otsu threshold value on each image. Based on data from a Otsu threshold value of each microscope image of the object to the changes within the object can be inferred the existence of a relationship between the position of an object to focus the microscope with the image of the threshold value that is increasingly the focus of an image, the image of the Otsu threshold values obtained are also getting smaller. In this study done by testing two samples as objects of microscope that single hair samples and samples collection of several hairs were each placed on a microscope glass slide. Data collection and observation results show that for a single hair samples obtained object focus Otsu threshold value $T = 97$ and sample an object consisting of a collection of some of the hair is obtained Otsu threshold value $T = 127$. But the testing of two samples showed differences influenced by the ratio between the number of pixels on the image and the background image of an object caused by the influence of the intensity of the light source of the microscope.

Keywords: Focus Identification, Digital Microscope, Otsu Threshold

Abstrak

Telah dilakukan penelitian untuk identifikasi fokus pada sebuah mikroskop digital menggunakan nilai threshold citra dari obyek mikroskop yang diperoleh melalui metode otsu. Pengambilan citra obyek dilakukan sepanjang lintasan jarak maksimum antara obyek dan lensa obyektif hingga jarak minimum dengan mencatat jumlah langkah motor penggerak obyek dan perubahan nilai threshold pada setiap citra yang diambil. Berdasarkan pengambilan data nilai threshold citra terhadap perubahan jarak obyek dapat disimpulkan adanya korelasi antara letak fokus obyek mikroskop dengan nilai threshold citra yaitu semakin fokus suatu citra maka nilai threshold yang diperoleh semakin kecil. Pada penelitian dilakukan pengujian dengan dua buah sampel sebagai obyek mikroskop yaitu sampel rambut tunggal dan sampel kumpulan dari beberapa rambut yang masing-masing diletakkan pada sebuah kaca preparat. Hasil pengambilan data dan pengamatan menunjukkan bahwa untuk obyek sampel rambut tunggal diperoleh nilai fokus dengan threshold $T=97$ dan sampel kumpulan beberapa rambut diperoleh nilai threshold $T=127$. Akan tetapi pengujian dua buah sampel menunjukkan perbedaan yang dipengaruhi oleh perbandingan antara banyaknya jumlah piksel pada obyek citra dan latar citra yang terjadi akibat pengaruh intensitas sumber cahaya mikroskop.

Kata Kunci: Identifikasi Fokus, Mikroskop Digital, Metode Otsu

Pendahuluan

Mikroskop merupakan alat yang sering digunakan untuk melihat benda kecil yang tidak dapat dilihat jelas oleh mata secara langsung. Perkembangan mikroskop saat ini sudah sampai pada mikroskop digital yang memudahkan

pengamat mikroskop untuk melihat obyek benda cukup dengan mengamati citra hasil dari obyek pada layar monitor [1]. Mikroskop digital banyak sekali manfaatnya apabila ditinjau dari besar kecilnya obyek yang diamati dimulai dari segi keilmuan dan pendidikan,

analisis obyek yang diamati, keperluan analisis medik dan biomedik, analisis suatu lapisan tipis dan *Quality Control* (QC). Ukuran sebuah citra digital yang diperoleh dari obyek mikroskop memiliki beberapa macam dilihat dari besar kecilnya perbesaran mikroskop dan resolusi citra yang dihasilkan dalam bentuk citra warna RGB sesuai kemampuan maksimum dari kamera mikroskop [2].

Melalui citra digital, suatu obyek mikroskop akan mudah untuk dilakukan analisis dan pengolahan data menggunakan komputer. Pengolahan data pada citra digital umumnya bertujuan untuk memperbaiki kualitas citra melalui histogram citra [3]. Selain itu melalui citra digital dapat juga digunakan untuk menentukan suatu nilai parameter identifikasi fokus obyek pada mikroskop [4] [5]. Sebagai parameter fokus obyek dari sebuah mikroskop dapat digunakan nilai *threshold* citra.

Salah satu cara untuk menentukan nilai *threshold* citra dapat menggunakan metode Otsu [6]. Penelitian telah menunjukkan bahwa metode otsu merupakan salah satu metode untuk menentukan nilai *threshold* yang cukup stabil sehingga sampai saat ini masih banyak digunakan [7]. Nilai *threshold* dapat digunakan untuk memisahkan antara latar dan obyek pada sebuah citra [8]. Untuk dapat menentukan nilai *threshold* citra menggunakan metode Otsu pada obyek memerlukan suatu konversi dari citra warna RGB menjadi citra *grayscale* 8 bit dengan komposisi merah 33,3%, hijau 50% dan biru 16,7% [9]. Konversi citra bertujuan untuk memudahkan dalam tahap analisis dan pengolahan data melalui sebuah kanal histogram citra *grayscale*.

Tinjauan Pustaka

Citra digital merupakan representasi dari sebuah citra dalam fungsi malar (kontinu) menjadi suatu nilai-nilai diskrit. Oleh karena itu suatu

citra digital pada umumnya berbentuk persegi panjang. Intensitas f dari suatu citra hitam putih pada titik (x,y) disebut dengan derajat keabuan (*gray level*). Ukuran dimensi dari sebuah citra dinyatakan sebagai tinggi x lebar atau lebar x panjang. Suatu citra digital yang memiliki L derajat keabuan dengan ukuran tinggi N , dan lebar M dapat dinyatakan sebagai fungsi berikut [10]:

$$f(x,y) = \begin{cases} 0 \leq x \leq M \\ 0 \leq y \leq N \\ 0 \leq f \leq L \end{cases} \quad \dots (1)$$

Matrik merupakan struktur data yang tepat untuk merepresentasikan citra digital. Citra digital yang memiliki ukuran $N \times M$ dapat dinyatakan dengan sebuah matrik yang berukuran N baris \times M kolom. Sehingga elemen-elemen citra dalam matrik tersebut dapat diakses dengan mudah melalui indeksnya yaitu baris dan kolom [10].

$$f(x,y) \approx \begin{bmatrix} f(0,0) & f(0,1) & \dots & f(0,M) \\ f(1,0) & f(1,1) & \dots & f(1,M) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ f(N-1,0) & f(N-1,1) & \dots & f(N-1,M-1) \end{bmatrix} \quad \dots (2)$$

Pada citra digital sebuah obyek dan latar citra dapat dipisahkan menggunakan nilai *threshold* citra [11]. Nilai *threshold* dari sebuah citra dapat menggunakan metode Otsu [6]. Metode Otsu ini merupakan salah satu metode yang berbasiskan histogram dari suatu citra. Algoritma yang digunakan pada metode otsu sangat sederhana dan dapat dilakukan langsung tanpa perlakuan awal dari sebuah histogram citra untuk menemukan nilai *threshold*. Jika suatu citra *grayscale* 8 bit terdiri dari nilai 0 sampai 255 derajat keabuan yang didefinisikan dalam L . Maka jumlah total piksel dapat dituliskan dalam N , dan n_i merupakan jumlah piksel yang memiliki derajat keabuan yang sama dan bernilai i [11].

$$\sum_{i=0}^{255} n_i = N$$

... (3)

Apabila nilai *threshold* yang dicari dinyatakan dalam *k*. Nilai *k* berkisar antara 1 sampai dengan *L* dalam derajat keabuan dengan nilai maksimum 255. Maka akan diperoleh p_i yang merupakan probabilitas untuk piksel *i* :

$$p_i = \frac{n_i}{N}$$

... (4)

Nilai momen kumulatif ke nol dinyatakan sebagai:

$$\omega(k) = \sum_{i=1}^k p_i$$

... (5)

Kemudian momen kumulatif ke satu dinyatakan sebagai berikut:

$$\mu(k) = \sum_{i=1}^k i \cdot p_i$$

... (6)

Untuk nilai rata-rata berturut-turut dinyatakan sebagai berikut:

$$\mu_T = \sum_{i=1}^L i \cdot p_i$$

... (7)

Sehingga nilai ambang *k* dapat ditentukan dengan memaksimalkan melalui sebuah persamaan berikut [6]:

$$\sigma_B^2(k) = \max_{0 \leq k \leq 1} \sigma_B^2(k)$$

... (8)

dengan nilai $\mu_B^2(k)$ sebagai berikut:

$$\sigma_B^2(k) = \frac{[\mu_T \omega(k) - \mu(k)]^2}{\omega(k)[1 - \omega(k)]}$$

... (9)

Metode Penelitian

Obyek penelitian ini menggunakan sebuah rambut tunggal dan kumpulan beberapa rambut yang dijadikan sebagai sampel yang akan diidentifikasi fokus citranya. Perbesaran yang digunakan yaitu 100x untuk sampel obyek dengan rambut tunggal

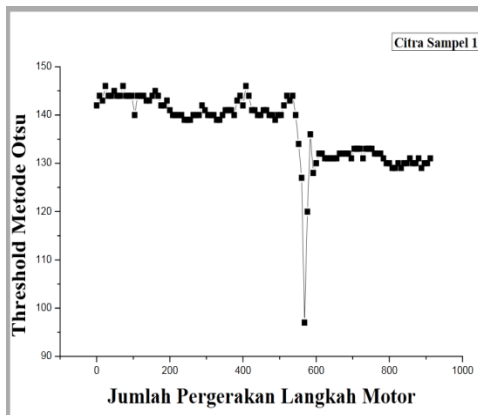
dan 40x untuk sampel obyek dengan kumpulan beberapa rambut.

Identifikasi fokus dilakukan dengan menggunakan nilai *threshold* dari masing-masing citra obyek mikroskop digital dimulai dari jarak terjauh hingga terdekat. Setiap perubahan jarak obyek akan dilakukan pengambilan citra dari suatu sampel kemudian dilakukan konversi dari citra warna RGB menjadi *grayscale* untuk dibuat sebuah histogram citra *grayscale*.

Dengan menggunakan data piksel pada histogram maka nilai *threshold* dihitung menggunakan metode Otsu. Untuk pengambilan data dapat dimulai dengan melakukan pencatatan langkah pergerakan obyek menggunakan sebuah motor dan nilai *threshold* citra yang dihasilkan dari jarak terjauh hingga terdekat.

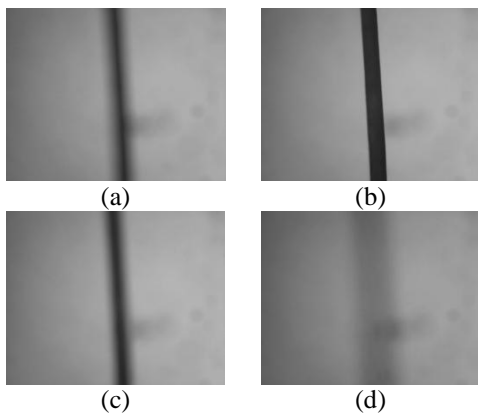
Hasil dan Pembahasan

Sampel obyek dengan rambut tunggal menunjukkan bahwa pergeseran jarak obyek mikroskop akan mempengaruhi nilai *threshold*. Fokus citra dari obyek mikroskop dapat diidentifikasi dengan adanya sebuah dasar lembah pada suatu grafik yang diperoleh dari hubungan antara jumlah pergerakan obyek melalui langkah motor dan nilai *threshold* yang dihasilkan dengan metode Otsu. Dasar lembah pada sebuah grafik menunjukkan nilai *threshold* terkecil yang diperoleh melalui pergerakan jarak obyek mikroskop sekaligus sebagai fokus citra pada sampel obyek rambut tunggal.



Gambar 1. Pengaruh jarak citra obyek rambut tunggal terhadap *threshold* dengan metode Otsu

Gambar 1 menunjukkan fokus sampel obyek yang diperoleh pada dasar lembah grafik dengan nilai *threshold* terkecil $T=97$ dengan jumlah pergerakan langkah motor sebesar 568. Ketika obyek mikroskop telah mencapai jarak fokus maka akan diperoleh suatu citra yang tajam dan jelas. Citra akan terlihat kabur saat berada pada jarak beberapa langkah pada sebelum atau sesudah citra tersebut berada pada posisi fokus seperti yang ditunjukkan Gambar 2.



Gambar 2. Sampel obyek citra rambut tunggal (a). Nilai *Threshold* $T=134$ (b). Nilai *Threshold* $T=97$ yang diperoleh hasil citra fokus (c) Nilai *Threshold* $T=136$ (d) Nilai *Threshold* $T=130$

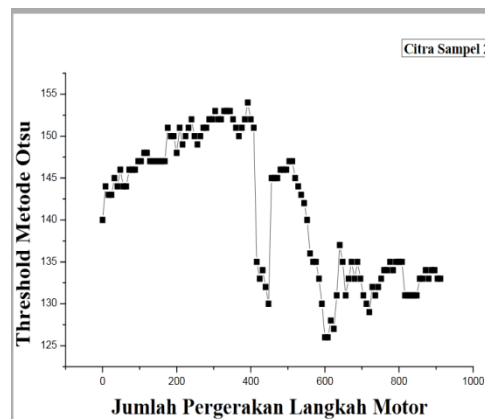
Setelah sampel obyek menunjukkan citra fokus, pada citra obyek rambut

tunggal tersebut dilakukan pemisahan antara obyek dan latar citra menggunakan binerisasi citra dengan *threshold* $T=97$. Binerisasi pada citra sampel tersebut bertujuan untuk membuktikan bahwa antara obyek dan latar dapat dipisahkan serta dapat diamati dengan jelas seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Binerisasi citra rambut tunggal fokus dengan $T=97$

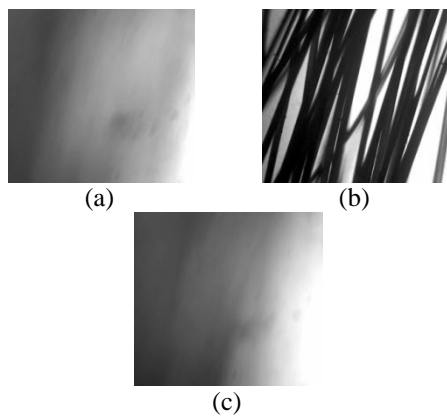
Sampel obyek dengan kumpulan beberapa rambut menunjukkan bahwa pergeseran jarak obyek mikroskop akan mempengaruhi nilai *threshold*. Tetapi fokus citra dari obyek mikroskop sulit untuk diidentifikasi karena pada grafik terdapat lebih dari satu lembah seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh jarak citra obyek kumpulan beberapa rambut terhadap *threshold* dengan metode Otsu

Gambar 4 menunjukkan bahwa lembah pertama terjadi setelah data pergerakan motor berada pada langkah ke-408, sedangkan lembah kedua terjadi

setelah pergerakan motor berada pada langkah ke-576. Berdasarkan pengamatan hasil citra, fokus sampel obyek diperoleh pada daerah lembah kedua dengan nilai *threshold* $T=127$ pada dasar lembah dengan nilai *threshold* terkecil. Gambar 5 menunjukkan citra yang diperoleh dari beberapa pergerakan obyek mikroskop dengan sampel obyek kumpulan beberapa rambut.



Gambar 5. Sampel citra rambut banyak (a). Nilai *Threshold* $T=52$ (b). Nilai *Threshold* $T=127$ diperoleh hasil citra fokus (c). Nilai *Threshold* $T=133$

Kemudian untuk untuk memisahkan antara obyek dan latar citra maka dapat dilakukan binerisasi citra menggunakan citra yang telah fokus dengan *threshold* $T=127$. Pada Gambar 6 setelah dilakukan binerisasi obyek terlihat menutupi hampir diseluruh luasan citra sehingga membuat obyek dan latar citra sulit dibedakan menggunakan pengamatan secara langsung.



Gambar 6. Binerisasi citra rambut banyak fokus dengan $T=127$

Berdasarkan nilai *threshold* dan citra yang telah fokus pada masing-masing sampel obyek maka dapat digunakan untuk menghitung jumlah piksel yang terbagi dalam dua daerah yang dipisahkan oleh *threshold*. Daerah satu merupakan daerah gelap yaitu daerah obyek dengan nilai intensitas kurang atau sama dengan *threshold* sedangkan daerah dua merupakan daerah terang yaitu daerah latar dengan nilai intensitas piksel lebih dari *threshold*. Sehingga dengan menggunakan *threshold* metode otsu maka dapat diperoleh prosentase perbandingan data citra latar dan obyek pada masing-masing sampel obyek mikroskop. Data hasil perhitungan dan perbandingan piksel dengan menggunakan batas *threshold* ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Prosentase jumlah piksel terhadap *threshold* otsu suatu citra yang telah fokus

Citra Obyek Fokus	Piksel $\leq T$	Piksel $> T$	Total
Sampel 1 (T=97)	23259 (7,6%)	284456 (92,4%)	307715
Sampel 2 (T=127)	215895 (70,1%)	91978 (29,9%)	307873

Tabel 1 menunjukkan bahwa sampel obyek dengan rambut tunggal memiliki jumlah piksel obyek jauh lebih kecil dari piksel latar. Oleh karena itu obyek lebih mudah dibedakan karena prosentasenya kecil yaitu 7,6% dari total piksel keseluruhan. Sehingga identifikasi fokus untuk sampel obyek dengan rambut tunggal mudah dibedakan menggunakan *threshold* Otsu sesuai dengan grafik pada Gambar 1. Sedangkan sampel obyek dengan kumpulan beberapa rambut memiliki jumlah piksel obyek lebih besar dari jumlah piksel latar. Jumlah prosentase obyek mencapai 70,1% sehingga sulit untuk melakukan

identifikasi fokus karena jumlah obyek yang terlalu besar akan menutupi berkas cahaya yang berasal dari sumber cahaya mikroskop. Intensitas latar suatu citra digital mikroskop sangat dipengaruhi oleh sumber cahaya sehingga jika luasan suatu citra digital mikroskop yang tertutup obyek yang tidak tembus cahaya semakin banyak, maka jumlah total intensitas cahaya yang diterima oleh kamera akan berkurang. Oleh karena itu, nilai *threshold* yang dihasilkan menjadi tidak stabil dan sulit diprediksi saat terjadi pergeseran jarak obyek seperti yang ditunjukkan grafik pada Gambar 4.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa untuk melakukan identifikasi fokus mikroskop digital dapat dilakukan dengan melakukan perhitungan *threshold* dengan metode Otsu dari suatu citra obyek mikroskop yang diambil dari jarak obyek mikroskop terjauh sampai jarak terdekat terhadap lensa obyektif. Citra yang menunjukkan nilai *threshold* terkecil merupakan citra fokus dari obyek mikroskop digital. Namun jumlah intensitas sumber cahaya mikroskop dan luasan obyek yang akan teramati melalui mikroskop sangat berpengaruh terhadap nilai *threshold* yang digunakan untuk menentukan citra fokus. Suatu prosentase kecil dari citra obyek yang diamati terhadap citra latar akan memudahkan dalam melakukan identifikasi fokus dari obyek mikroskop.

Daftar Pustaka

- [1] Wicaksono, D., Isnanto, R. R., Nurhayati, O. D., *Perancangan perangkat lunak untuk analisis tingkat fokus pada citra mikroskop digital menggunakan proses ekstraksi ciri*, Jurnal Teknologi dan Sistem Komputer Volume 2, Nomor 1, Tahun 2014
- [2] Hartati, S., Harjoko, A., Supardi, . W., *The Digital Microscope and It's Image Processing Utility*, TELKOMNIKA, Vol.9, No.3, December 2011, pp. 565~574 ISSN: 1693-6930
- [3] Akhlis, I., Sugiyanto, *Implementasi Metode Histogram Equalization Untuk Meningkatkan Kualitas Citra Digital*. Jurnal Fisika Vol. 1 No. 2 UNNES, November 2011
- [4] Chen, L., Yang, Z., and Sun, L., *Fast autofocus of microscopy images based on depth-from-defocus*, IEEE, 2008
- [5] Shen, F., Hodgson, L., Hahn, K., *Digital Autofocus Methods for Automated Microscopy*, Methods In Enzymology, Vol. 414, 2006
- [6] Otsu, N., *A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms*, IEEE Transactions on System, Man, Cybernetics, Vol. smc-9, No.1, January 1979.
- [7] Vala, H., J., Baxi, A., *A Review on Otsu Image Segmentation Algorithm*, International Journal of Advanced Research in Computer Engineering & Technology, Vol. 2, Issue 2, Februari 2013.
- [8] Raju, P. R., Neelima, G., *Image Segmentation by Using Histogram Thresholding*, IJCSET, Vol. 2, Issue1, 776-779, 2012
- [9] Kumar, T., Verma, K., "A Theory Based on Conversion of RGB image to Gray", International Journal of Computer Applications, Vol. 7, No. 2, September, 2010.
- [10] Nugroho, Susilo, Akhlis, *Pengembangan Program Pengolahan Citra Untuk Radiografi Digital*, Jurnal MIPA UNNES, 2012
- [11] Prasantha, H. S., *Medical Image Segmentation*, IJCSE International Journal on Computer Science and Engineering, Vol.2 No. 4, 2010