

BAB II

DASAR TEORI

2.1 Tinjauan Pustaka

Penelitian mengenai otomatisasi mikroskop digital telah mencakup pengendalian aktuator, pencarian posisi fokus, pergantian lensa objektif, dan pengolahan citra. Penelitian ini tidak hanya membutuhkan referensi mengenai perangkat penggerak revolver, tetapi juga memerlukan dasar untuk menghitung ketajaman citra dan mengevaluasi hasil pemindaian kedua objektif. Oleh karena itu, penelitian terdahulu yang dipilih mencakup aspek mekanisme pergantian lensa, pengendalian motor stepper, metode Otsu, perhitungan *focus score*, dan evaluasi kurva fokus sebagaimana dirangkum dalam Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Tinjauan pustaka

No.	Penelitian Terdahulu	Fokus dan Temuan Penelitian	Relevansi terhadap Penelitian Ini
1	A Low-Cost Automated Digital Microscopy Platform for Automatic Identification of Diatoms [1]	Mengembangkan platform mikroskop digital otomatis yang mengintegrasikan pergerakan meja preparat, pengaturan fokus, pergantian lensa objektif, akuisisi citra, dan pengolahan citra. Revolver digerakkan menggunakan motor stepper agar objektif dapat diposisikan secara otomatis.	Menjadi dasar penerapan motor stepper pada mekanisme revolver. Penelitian ini mengembangkan pengendalian objektif 4× dan 10× menggunakan ESP32 serta menambahkan pemilihan objektif berdasarkan hasil pemindaian citra.
2	Low-Cost and High-Precision Stepping Motor Controlled	Menggunakan motor stepper untuk memindahkan titik	Menjadi dasar penggunaan motor stepper dan proses

	Multi-Point Automatic Time-Lapse Microscope [3]	pengamatan dan mengubah posisi fokus pada sumbu Z. Posisi fokus dipilih berdasarkan nilai fokus yang diperoleh dari sejumlah citra hasil pemindaian.	pemindaian bertahap. Pada penelitian ini, pemindaian dilakukan pada objektif 4× dan 10× sebelum sistem menentukan objektif yang digunakan.
3	Analysis of Focus Measure Operators for Shape-from-Focus [4]	Membandingkan berbagai operator pengukuran fokus berdasarkan respons terhadap ketajaman, derau, tekstur, dan ukuran jendela evaluasi. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa nilai fokus dipengaruhi oleh karakteristik citra dan area yang dianalisis.	Menjadi dasar penggunaan focus score sebagai parameter ketajaman citra serta evaluasi nilai di sekitar posisi fokus terbaik. Dalam penelitian ini, focus score dihitung pada ROI dan digunakan untuk membentuk kurva hasil pemindaian.
4	Identifikasi Fokus Mikroskop Digital Menggunakan Metode Otsu [5]	Menggunakan nilai ambang Otsu untuk mengidentifikasi perubahan fokus citra mikroskop. Nilai Otsu dipengaruhi oleh kondisi fokus, intensitas pencahayaan, dan perbandingan luas	Menjadi dasar penggunaan metode Otsu dalam pemrosesan citra. Pada penelitian ini, nilai Otsu digunakan untuk mengidentifikasi bagian tepi objek yang dipakai dalam

		objek terhadap latar belakang.	perhitungan focus score, bukan sebagai penentu langsung lensa objektif.
5	Robust Autofocusing in Microscopy [6]	Mengevaluasi keandalan hasil fokus melalui perbandingan nilai maksimum kurva fokus dengan nilai acuan di luar daerah fokus. Pendekatan tersebut menunjukkan bahwa kekuatan puncak fokus perlu dinilai secara relatif terhadap kondisi dasar kurva.	Menjadi dasar perhitungan kualitas relatif hasil pemindaian. Dalam penelitian ini, puncak focus score masing-masing objektif dibandingkan dengan nilai median kurva untuk memperoleh kualitas makro relatif.

Berdasarkan Tabel 2.1, otomatisasi pergantian lensa objektif menggunakan motor stepper telah diterapkan pada platform mikroskop digital [1]. Penggunaan motor stepper untuk melakukan perpindahan posisi dan pemindaian fokus juga telah diterapkan pada sistem mikroskop otomatis [3]. Namun, pengendalian mekanis tersebut perlu didukung oleh pengolahan citra agar lensa tidak hanya dipindahkan berdasarkan perintah pengguna.

Perhitungan *focus score* digunakan untuk merepresentasikan perubahan ketajaman citra selama pemindaian [4]. Metode Otsu digunakan untuk memisahkan karakteristik piksel objek dan latar belakang sebelum bagian tepi objek dianalisis [5]. Kualitas hasil pemindaian selanjutnya dapat dievaluasi secara relatif berdasarkan kekuatan puncak terhadap kondisi dasar kurva [6]. Perubahan dan perbandingan nilai pada kurva fokus juga dapat digunakan untuk mengenali karakteristik daerah fokus [7].

Berdasarkan penelitian tersebut, penelitian ini mengintegrasikan pengendalian revolver dengan pengolahan citra untuk melakukan pergantian dan pemilihan lensa objektif 4× dan 10×. Pemilihan lensa tidak dilakukan hanya berdasarkan nilai maksimum *focus score* atau nilai Otsu. Sistem mengevaluasi kualitas relatif kurva fokus dan nilai lokal di sekitar posisi fokus terbaik dari kedua objektif. Pendekatan tersebut digunakan agar keputusan lensa mempertimbangkan karakteristik hasil pemindaian secara lebih menyeluruh.

2.2 Mikroskop Optik Digital

Mikroskop digital merupakan pengembangan mikroskop optik yang mengintegrasikan sistem optik dengan kamera digital dan perangkat komputer. Kamera digunakan untuk menangkap bayangan objek yang dibentuk oleh lensa objektif, kemudian mengubahnya menjadi data citra digital. Citra tersebut dapat ditampilkan secara langsung pada layar komputer, disimpan sebagai dokumentasi, dan diolah menggunakan perangkat lunak pengolahan citra [1]. Penggunaan kamera dan komputer juga memungkinkan proses pengamatan dilakukan tanpa hanya bergantung pada pengamatan langsung melalui lensa okuler [2].

Prinsip kerja mikroskop digital diawali dengan mengarahkan cahaya menuju objek atau preparat. Cahaya yang melewati atau dipantulkan oleh objek diterima oleh lensa objektif untuk menghasilkan bayangan yang diperbesar. Bayangan tersebut kemudian diteruskan menuju sensor kamera dan diubah menjadi sinyal digital. Data citra selanjutnya dikirimkan ke komputer untuk ditampilkan dan diproses menggunakan perangkat lunak [1].

Komponen utama mikroskop digital terdiri atas sistem pencahayaan, meja preparat, lensa objektif, revolver, mekanisme pengaturan fokus, kamera digital, dan perangkat lunak pengolah citra. Sistem pencahayaan berfungsi menerangi objek, sedangkan meja preparat digunakan sebagai tempat meletakkan sampel. Lensa objektif menghasilkan perbesaran utama dan dipasang pada revolver agar pengguna dapat memilih tingkat perbesaran yang diperlukan. Mekanisme fokus digunakan untuk mengatur jarak antara objek dan lensa objektif, sedangkan kamera mengubah bayangan optik menjadi citra digital [1].

Lensa objektif memiliki tingkat perbesaran yang berbeda dan menghasilkan perbedaan luas bidang pandang, resolusi spasial, serta detail objek. Lensa dengan perbesaran rendah menghasilkan bidang pandang yang lebih luas sehingga sesuai untuk pengamatan awal. Sebaliknya, lensa dengan perbesaran lebih tinggi menghasilkan bidang pandang yang lebih sempit, tetapi dapat menampilkan bagian objek secara lebih terperinci [1]. Pemilihan lensa objektif yang tepat diperlukan agar citra yang diperoleh sesuai dengan karakteristik dan ukuran objek yang diamati.



Gambar 2.1 Mikroskop digital

Integrasi sistem optik, kamera digital, aktuator, mikrokontroler, dan perangkat lunak memungkinkan mikroskop digital dikembangkan menjadi sistem pengamatan otomatis. Kamera menyediakan citra sebagai data masukan, sedangkan aktuator mengendalikan gerakan mekanis seperti perpindahan meja preparat, pengaturan fokus, dan pergantian lensa objektif. Data citra tersebut dapat diolah untuk mengevaluasi kualitas fokus dan mendukung pemilihan tingkat perbesaran secara objektif [1].

2.3 Lensa Objektif Mikroskop

Lensa objektif merupakan komponen optik utama yang terletak dekat dengan objek atau preparat. Lensa tersebut menerima cahaya dari objek dan membentuk bayangan yang diperbesar. Bayangan kemudian diteruskan melalui sistem optik menuju lensa okuler atau sensor kamera. Karakteristik lensa objektif memengaruhi perbesaran, resolusi spasial, luas bidang pandang, dan detail citra yang diperoleh [1].

Setiap lensa objektif memiliki nilai perbesaran yang menunjukkan kemampuan lensa dalam memperbesar tampilan objek. Mikroskop umumnya dilengkapi beberapa lensa objektif dengan nilai perbesaran berbeda. Lensa berperbesaran rendah menghasilkan bidang pandang yang lebih luas, sedangkan lensa berperbesaran lebih tinggi menghasilkan bidang pandang yang lebih sempit dengan tampilan objek yang lebih terperinci. Perbedaan perbesaran objektif juga menyebabkan perubahan resolusi spasial citra yang diperoleh kamera [1].

Perbedaan karakteristik lensa objektif menyebabkan setiap lensa dapat menghasilkan respons citra yang berbeda terhadap objek yang sama. Perubahan tingkat perbesaran dapat memengaruhi jumlah bagian objek yang terlihat, jumlah detail lokal, kontras, dan distribusi intensitas piksel. Kondisi tersebut menyebabkan nilai pengukuran ketajaman citra tidak dapat dinilai hanya berdasarkan skala absolut tanpa mempertimbangkan karakteristik citra dan area yang dianalisis [4].

Pergantian lensa objektif juga dapat menyebabkan perubahan posisi fokus. Sistem autofokus mikroskop mengevaluasi sejumlah citra yang diperoleh pada posisi fokus berbeda untuk menentukan posisi dengan respons fokus terbaik [6]. Perubahan kecil pada jarak antara lensa objektif dan preparat dapat mengubah ketajaman serta nilai evaluasi fokus citra. Oleh karena itu, kondisi fokus perlu diperiksa kembali setelah pergantian tingkat perbesaran.



Gambar 2.2 Lensa objektif 4× dan 10×

Lensa-lensa objektif dipasang padaudukan berputar yang disebut revolver atau nosepiece. Revolver memungkinkan lensa objektif dipindahkan menuju jalur optik sesuai tingkat perbesaran yang diperlukan. Posisi akhir revolver harus menempatkan sumbu lensa objektif sejajar dengan jalur cahaya dan kamera agar citra objek dapat diperoleh dengan baik. Platform mikroskop digital otomatis telah menerapkan penggerak pada revolver untuk mengendalikan perubahan posisi lensa objektif [1].

Pada mekanisme manual, pengguna memutar revolver secara langsung hingga lensa objektif berada pada posisi pengamatan. Mekanisme tersebut dapat diotomatisasi menggunakan motor stepper yang menghasilkan gerakan rotasi berdasarkan jumlah pulsa. Motor stepper memungkinkan arah putaran, jumlah langkah, dan posisi akhir mekanisme dikendalikan secara bertahap [3]. Penerapan motor stepper pada revolver memungkinkan perpindahan lensa objektif dilakukan secara otomatis dan terukur [1].

Pemilihan lensa objektif secara otomatis memerlukan informasi tambahan dari citra yang diperoleh pada setiap tingkat perbesaran. Nilai evaluasi fokus dapat dihitung pada beberapa posisi pemindaian untuk membentuk kurva fokus. Karakteristik puncak dan nilai di sekitarnya dapat digunakan untuk mengevaluasi kualitas hasil pemindaian, sedangkan perbandingan nilai secara relatif dapat digunakan untuk mengurangi ketergantungan terhadap skala absolut hasil pengukuran [6]. Dengan demikian, pengendalian posisi revolver dapat diintegrasikan dengan pengolahan citra untuk mendukung pemilihan lensa objektif.

2.4 ESP 32

ESP32 merupakan mikrokontroler 32-bit yang dikembangkan untuk mendukung aplikasi sistem tertanam dan Internet of Things (IoT). Mikrokontroler ini memiliki kemampuan pemrosesan, memori, pin masukan-keluaran, serta komunikasi nirkabel yang terintegrasi dalam satu perangkat. Kemampuan tersebut memungkinkan ESP32 menjalankan proses pengendalian, pertukaran data, dan komunikasi dengan perangkat lain [8].

Papan pengembangan ESP32 umumnya menggunakan modul ESP32-WROOM-32 dengan prosesor dual-core Xtensa LX6. Prosesor tersebut dapat bekerja hingga frekuensi 240 MHz dan didukung memori SRAM serta flash memory untuk menyimpan program. ESP32 bekerja pada tegangan logika 3,3 V sehingga tegangan masukan dan keluaran pada pin perlu disesuaikan dengan karakteristik perangkat yang dihubungkan [8].



Gambar 2.3 Papan pengembangan ESP32

ESP32 menyediakan pin General-Purpose Input/Output (GPIO) yang dapat dikonfigurasi sebagai masukan atau keluaran digital. Sebagai masukan, GPIO dapat digunakan untuk membaca kondisi tombol, sensor, atau sinyal status dari perangkat lain. Sebagai keluaran, GPIO dapat menghasilkan sinyal logika untuk mengendalikan LED, relai, maupun rangkaian penggerak motor. Pin GPIO hanya menghasilkan sinyal dengan daya terbatas sehingga beban yang memerlukan arus lebih besar harus dikendalikan melalui rangkaian penggerak atau driver [8].

Selain GPIO digital, ESP32 mendukung beberapa antarmuka komunikasi, seperti Universal Asynchronous Receiver-Transmitter (UART), Serial Peripheral

Interface (SPI), dan Inter-Integrated Circuit (I²C). UART digunakan untuk komunikasi data serial, SPI digunakan untuk pertukaran data berkecepatan tinggi dengan perangkat perifer, sedangkan I²C memungkinkan beberapa perangkat berkomunikasi melalui jalur data dan clock. Ketersediaan beberapa antarmuka tersebut memudahkan integrasi ESP32 dengan sensor, layar, modul komunikasi, dan perangkat pengendali lainnya [8].

ESP32 juga dilengkapi konektivitas Wi-Fi dan Bluetooth. Koneksi Wi-Fi memungkinkan ESP32 berkomunikasi dengan komputer atau perangkat lain melalui jaringan nirkabel. ESP32 dapat dikonfigurasi sebagai station yang terhubung ke jaringan atau sebagai access point yang menyediakan jaringan secara langsung. Pertukaran data melalui Wi-Fi dapat menggunakan protokol komunikasi seperti Transmission Control Protocol (TCP) untuk mengirimkan perintah dan informasi status antardevice [8].

Tabel 2.2 Spesifikasi papan pengembangan ESP32

Parameter	Spesifikasi
Mikrokontroler	ESP32-WROOM-32
Prosesor	Dual-Core Xtensa LX6 32-bit
Frekuensi Clock	Hingga 240 MHz
Flash Memory	4 MB
SRAM	520 KB
Tegangan Operasi	3,3 V
GPIO	Hingga 34 pin
Komunikasi	UART, SPI, I2C
Konektivitas	Wi-Fi 802.11 b/g/n dan Bluetooth

2.5 Motor Stepper NEMA 17

Motor stepper merupakan aktuator elektromekanis yang mengubah rangkaian pulsa listrik menjadi gerakan rotasi secara bertahap. Setiap pulsa masukan menyebabkan poros motor berpindah sebesar sudut tertentu. Jumlah pulsa

menentukan jumlah langkah atau perpindahan sudut, sedangkan urutan pemberian sinyal pada kumparan menentukan arah putaran motor. Karakteristik tersebut memungkinkan posisi dan jumlah putaran motor dikendalikan secara terbuka tanpa menggunakan sensor posisi pada setiap langkah [3].

Motor stepper tersusun atas bagian diam yang disebut stator dan bagian berputar yang disebut rotor. Stator memiliki sejumlah kumparan yang menghasilkan medan magnet ketika dialiri arus. Pemberian arus secara berurutan pada kumparan menyebabkan rotor bergerak mengikuti perubahan medan magnet. Kecepatan putaran motor dipengaruhi oleh frekuensi pulsa, sedangkan arah putaran ditentukan oleh urutan pengaktifan kumparan.

NEMA 17 merupakan klasifikasi motor stepper dengan ukuran sisi muka sekitar 1,7 inci atau 42 mm. Salah satu tipe NEMA 17 yang umum digunakan mempunyai sudut langkah dasar sebesar $1,8^\circ$ sehingga memerlukan 200 langkah untuk menghasilkan satu putaran penuh. Motor stepper NEMA 17 telah diterapkan sebagai aktuator pada mekanisme mikroskop otomatis karena mampu menghasilkan gerakan rotasi secara bertahap [1].



Gambar 2.4 Motor stepper NEMA 17

Pengendalian motor stepper dapat dilakukan menggunakan mode langkah penuh atau full step dan mode microstepping. Pada mode langkah penuh, rotor berpindah sesuai sudut langkah dasar motor. Pada mode microstepping, satu langkah penuh dibagi menjadi beberapa langkah yang lebih kecil melalui pengaturan arus pada kumparan motor. Pembagian tersebut dapat meningkatkan

resolusi gerakan dan menghasilkan perpindahan yang lebih halus, meskipun karakteristik torsi pada setiap langkah perlu diperhatikan [9].

Motor stepper memerlukan driver untuk mengatur arus dan urutan pengaktifan kumparan. Mikrokontroler mengirimkan sinyal pulsa dan arah menuju driver, kemudian driver mengatur arus yang diberikan kepada motor. Jumlah pulsa menentukan perpindahan motor, sedangkan frekuensi pulsa menentukan kecepatan gerak. Penggunaan driver juga memungkinkan penerapan microstepping dan pengaturan batas arus sesuai karakteristik motor [9].

Tabel 2.3 Spesifikasi motor stepper NEMA 17

Parameter	Spesifikasi
Tipe motor	Stepper bipolar
Ukuran <i>frame</i>	42 × 42 mm
Sudut langkah	1,8°
Jumlah langkah per putaran	200 langkah
Arus nominal	1,5 A
Torsi penahan	4,2 kg·cm
Jumlah kabel	4 kabel

2.6 Driver Motor Stepper TB6600

Driver motor stepper merupakan rangkaian penggerak yang mengatur penyaluran tegangan dan arus menuju kumparan motor berdasarkan sinyal dari sistem pengendali. Penggunaan driver diperlukan karena keluaran mikrokontroler tidak mampu menyuplai arus yang dibutuhkan motor stepper secara langsung. Salah satu driver yang dapat digunakan untuk mengendalikan motor stepper bipolar adalah TB6600. Driver tersebut dapat menerima sinyal kendali berdaya rendah dari mikrokontroler, kemudian menghasilkan arus keluaran yang sesuai untuk menggerakkan kumparan motor [10].

Pengendalian TB6600 umumnya dilakukan melalui tiga terminal masukan, yaitu *pulse* (PUL), *direction* (DIR), dan *enable* (ENA). Terminal PUL menerima pulsa langkah dari pengendali. Setiap pulsa menyebabkan motor bergerak sesuai

dengan resolusi langkah yang telah ditentukan. Terminal DIR digunakan untuk menentukan arah putaran motor, sedangkan terminal ENA digunakan untuk mengaktifkan atau menonaktifkan keluaran driver. Jumlah pulsa yang diberikan kepada driver menentukan jumlah langkah dan perubahan posisi sudut motor [10].

TB6600 mendukung pengaturan langkah penuh dan *microstepping*. Pada pengaturan langkah penuh, satu pulsa menggerakkan motor sebesar satu langkah dasar. Sementara itu, *microstepping* membagi satu langkah dasar menjadi beberapa langkah yang lebih kecil. Pembagian tersebut meningkatkan resolusi perintah gerak sehingga perubahan posisi motor dapat dilakukan secara lebih halus. Namun, peningkatan jumlah *microstep* tidak selalu menghasilkan ketelitian posisi yang sebanding karena karakteristik torsi motor bersifat tidak linier pada setiap posisi *microstep* [9].

Nilai arus keluaran dan pembagian *microstep* pada modul TB6600 dapat diatur menggunakan sakelar DIP. Pengaturan arus perlu disesuaikan dengan karakteristik motor agar torsi yang dihasilkan mencukupi tanpa menyebabkan kenaikan temperatur secara berlebihan. Pengaturan *microstep* menentukan jumlah pulsa yang diperlukan untuk menghasilkan satu putaran penuh. Oleh karena itu, konfigurasi driver berpengaruh terhadap resolusi gerakan, kecepatan putaran, serta karakteristik torsi motor [9].



Gambar 2.5 Driver motor stepper TB6600

Driver TB6600 telah digunakan sebagai penghubung antara sistem pengendali dan motor stepper NEMA 23 pada sistem kendali posisi. Pada susunan

tersebut, driver mengubah pulsa dari pengendali menjadi urutan pengaktifan kumparan motor. Hal tersebut menunjukkan bahwa TB6600 dapat digunakan pada mekanisme yang membutuhkan pengaturan arah dan perpindahan posisi motor berdasarkan jumlah pulsa kendali [10].

Tabel 2.4 Spesifikasi driver motor stepper TB6600

Parameter	Spesifikasi
Jenis driver	Driver motor stepper bipolar
Tegangan masukan	9–42 V DC
Arus keluaran	Hingga sekitar 4 A
Sinyal kendali	PUL, DIR, dan ENA
Pengaturan langkah	<i>Full-step</i> dan <i>microstepping</i>
Motor yang didukung	Motor stepper 2 fase
Pengaturan arus	Melalui sakelar DIP
Pengaturan <i>microstep</i>	Melalui sakelar DIP
Fitur proteksi	Arus berlebih dan temperatur berlebih

Spesifikasi pada Tabel 2.4 memperlihatkan bahwa TB6600 menyediakan pengaturan arus dan resolusi langkah yang dapat disesuaikan dengan kebutuhan penggerak. Kemampuan menerima sinyal PUL, DIR, dan ENA juga memudahkan proses pengendalian motor melalui mikrokontroler. Pengaturan *microstep* dapat digunakan untuk memperoleh perubahan posisi mekanis yang lebih kecil, sedangkan pemilihan batas arus membantu menjaga kemampuan torsi dan kondisi kerja motor [9], [10].

2.7 Kamera Optilab

Kamera digital pada mikroskop berfungsi mengubah citra yang dihasilkan oleh sistem optik menjadi data digital. Citra tersebut dapat ditampilkan, disimpan, dan dianalisis menggunakan komputer. Dalam sistem mikroskop otomatis, kamera juga berperan sebagai perangkat akuisisi citra yang menyediakan data visual untuk menilai perubahan kualitas fokus pada setiap posisi mekanisme penggerak [11].

Optilab merupakan salah satu kamera digital yang dapat dipasang pada mikroskop. Kamera Optilab yang dilaporkan dalam penelitian sistem autofokus memiliki resolusi asli sebesar 3840×3040 piksel dan ukuran sensor 1/2,3 inci. Kamera tersebut dilengkapi lensa 30 mm dan menggunakan antarmuka USB 2.0 untuk mengirimkan data citra menuju komputer [11].

Pada mikroskop binokuler yang tidak memiliki tabung kamera khusus, kamera dapat dipasang melalui salah satu tabung lensa okuler. Lensa okuler dilepaskan terlebih dahulu, kemudian kamera dipasang menggunakan adaptor yang sesuai. Posisi kamera perlu diselaraskan dengan sumbu optik agar citra yang ditangkap memiliki bidang pandang yang sesuai dan tidak mengalami pemotongan objek secara berlebihan [11].

Resolusi asli kamera tidak selalu digunakan secara penuh selama pengolahan citra. Penelitian mengenai sistem autofokus pasif menggunakan resolusi pengambilan citra sebesar 960×760 piksel untuk mengurangi kebutuhan sumber daya komputasi dan mempercepat pemrosesan citra. Penyesuaian resolusi dapat dilakukan selama informasi visual yang diperlukan untuk menganalisis ketajaman objek tetap dapat dipertahankan [11].

Citra yang dikirimkan kamera ke komputer dapat digunakan sebagai umpan balik dalam sistem autofokus. Perubahan posisi fokus akan menghasilkan perubahan pada ketegasan batas objek, kontras, dan distribusi intensitas piksel. Karakteristik tersebut kemudian dapat diolah menjadi nilai numerik sehingga penentuan kondisi fokus tidak hanya bergantung pada pengamatan visual pengguna [11].

Tabel 2.5 Spesifikasi kamera Optilab

Parameter	Spesifikasi
Resolusi asli	3840×3040 piksel
Resolusi pengambilan citra	960×760 piksel
Ukuran sensor	1/2,3 inci
Lensa kamera	30 mm

Parameter	Spesifikasi
Antarmuka data	USB 2.0
Penempatan kamera	Tabung lensa okuler
Fungsi	Akuisisi citra dan umpan balik autofokus

Karakteristik pada Tabel 2.5 menunjukkan bahwa Kamera Optilab dapat digunakan untuk memperoleh citra mikroskopis dalam bentuk digital. Antarmuka USB memungkinkan citra dikirimkan secara langsung menuju komputer, sedangkan resolusi pengambilan citra dapat disesuaikan dengan kebutuhan analisis dan kemampuan pemrosesan perangkat lunak [11].

2.8 Pengolahan Citra Digital

Pengolahan citra digital merupakan proses mengubah atau menganalisis citra menggunakan komputer untuk memperoleh informasi tertentu. Citra digital tersusun atas piksel yang menyimpan nilai warna atau intensitas cahaya. Nilai piksel tersebut memungkinkan karakteristik objek, seperti warna dan kontras, dianalisis secara numerik [12].

Dalam pengamatan mikroskopis, pengolahan citra dapat digunakan untuk menilai perubahan tampilan objek akibat perubahan posisi fokus. Citra dari kamera dapat dikonversi ke tingkat keabuan, kemudian dianalisis berdasarkan intensitas dan perubahan nilai antarpiksel. Pendekatan ini memungkinkan kualitas fokus dinyatakan sebagai nilai yang dapat dibandingkan antar-citra [4].

Histogram digunakan untuk melihat sebaran intensitas pada citra tingkat keabuan. Informasi tersebut juga menjadi dasar penentuan nilai ambang pada metode Otsu untuk memisahkan kelompok piksel berdasarkan intensitasnya [5]. Sementara itu, penilaian ketajaman memerlukan ukuran fokus yang sesuai karena setiap metode pengukuran memiliki respons berbeda terhadap kontras, derau, dan ukuran area citra yang dianalisis [4].

2.8.1 Citra RGB

Citra RGB merupakan citra berwarna yang dibentuk oleh tiga kanal, yaitu merah (*red*), hijau (*green*), dan biru (*blue*). Setiap piksel mempunyai nilai pada ketiga kanal tersebut. Kombinasi nilainya menentukan warna piksel yang ditampilkan, sehingga informasi warna objek dapat dianalisis secara terpisah pada masing-masing kanal [12].

Pada citra RGB dengan kedalaman 8 bit per kanal, nilai setiap kanal berada pada rentang 0 sampai 255. Kombinasi (0, 0, 0) menghasilkan warna hitam, sedangkan kombinasi (255, 255, 255) menghasilkan warna putih. Nilai di antara kedua batas tersebut membentuk variasi warna sesuai intensitas masing-masing kanal [12].

Analisis yang berfokus pada ketajaman tidak selalu memerlukan seluruh informasi warna. Pada sistem autofokus mikroskopis, citra berwarna dapat diubah menjadi citra tingkat keabuan agar perubahan intensitas dan kontras objek lebih mudah dihitung [11].

2.8.2 Citra Grayscale

Citra *grayscale* atau citra tingkat keabuan menyatakan setiap piksel dengan satu nilai intensitas. Pada citra tingkat keabuan 8 bit, nilai 0 mewakili hitam, nilai 255 mewakili putih, dan nilai di antaranya mewakili berbagai tingkat abu-abu. Bentuk citra ini memungkinkan analisis dilakukan berdasarkan intensitas tanpa mengolah tiga kanal warna secara terpisah [11].

Konversi dari citra berwarna ke citra tingkat keabuan menyederhanakan data yang digunakan untuk pengukuran kontras. Penelitian sistem autofokus pada citra mikroskopis menggunakan citra tingkat keabuan sebelum menghitung ukuran fokus karena informasi warna tidak diperlukan dalam perhitungan tersebut [11].

Perubahan fokus dapat memengaruhi kejelasan detail dan batas objek pada citra tingkat keabuan. Ketika objek semakin kabur, perubahan intensitas pada bagian tepinya cenderung melemah. Oleh karena itu, nilai intensitas dan perbedaannya antarpiksel dapat digunakan sebagai dasar pengukuran ketajaman citra [4].

2.8.3 Histogram Citra

Histogram citra menunjukkan banyaknya piksel pada setiap nilai intensitas. Pada citra tingkat keabuan 8 bit, sumbu horizontal mewakili nilai intensitas 0 sampai 255, sedangkan sumbu vertikal menunjukkan jumlah piksel untuk setiap nilai tersebut. Histogram membantu menggambarkan sebaran intensitas tanpa harus memeriksa piksel satu per satu [5].

Sebaran histogram dapat digunakan untuk menentukan nilai ambang yang memisahkan piksel ke dalam kelompok intensitas tertentu. Pada metode Otsu, nilai ambang dipilih berdasarkan distribusi piksel agar pemisahan antarkelompok mencapai kriteria yang digunakan metode tersebut. Prinsip perhitungannya dibahas lebih lanjut pada subbab 2.9 [5].

Histogram memberikan informasi mengenai distribusi intensitas, tetapi tidak menunjukkan letak piksel di dalam citra. Karena itu, perubahan histogram perlu ditafsirkan bersama tampilan objek dan ukuran fokus ketika digunakan untuk menilai ketajaman citra mikroskopis [4].

2.8.4 Region of Interest (ROI)

Region of Interest (ROI) merupakan bagian citra yang dipilih sebagai wilayah pengolahan. Pemilihan wilayah memungkinkan perhitungan dipusatkan pada objek atau detail yang perlu diamati. Ukuran wilayah analisis perlu diperhatikan karena hasil pengukuran fokus dapat berubah ketika ukuran area citra yang dihitung berubah [4].

Area citra yang terlalu luas dapat mencakup bagian yang kurang relevan terhadap objek, sedangkan area yang terlalu sempit dapat kehilangan detail yang diperlukan untuk menilai fokus. Oleh sebab itu, ROI perlu dipilih agar memuat detail objek yang cukup dan menghasilkan perbandingan ukuran fokus yang bermakna [4].

Jika sejumlah citra dari posisi fokus yang berbeda dibandingkan, lokasi dan ukuran ROI perlu dijaga tetap sama. Dengan demikian, perubahan nilai yang diamati berasal dari bagian objek yang sebanding pada setiap citra [4].

2.8.5 Nilai Ketajaman Citra (Focus Score)

Nilai ketajaman citra atau *focus score* merupakan besaran numerik yang digunakan untuk membandingkan kualitas fokus beberapa citra. Nilai tersebut dihitung menggunakan ukuran fokus tertentu, misalnya berdasarkan variasi intensitas, perubahan intensitas pada tepi objek, atau informasi frekuensi citra. Setiap ukuran fokus memiliki karakteristik dan kepekaan yang berbeda terhadap kondisi citra [4].

Citra yang lebih fokus umumnya memperlihatkan detail dan batas objek yang lebih jelas. Sebaliknya, pengaburan dapat mengurangi perubahan intensitas pada detail berukuran kecil. Ukuran fokus memanfaatkan perubahan karakteristik tersebut untuk memberikan nilai pada citra yang diperiksa [4].

Dalam sistem autofokus berbasis citra, nilai fokus dapat dihitung pada beberapa posisi mekanis lalu dibandingkan untuk mencari posisi dengan respons fokus terbaik. Namun, nilai yang lebih besar hanya dapat diartikan sebagai kondisi yang lebih fokus apabila sesuai dengan sifat ukuran fokus yang digunakan. Karena itu, rumus perhitungan *focus score* harus dinyatakan secara jelas sebelum hasil pengujian dianalisis [4], [11].

2.9 Metode Otsu

Metode Otsu merupakan metode *thresholding* yang digunakan untuk menentukan nilai ambang citra secara otomatis berdasarkan distribusi intensitas piksel pada histogram. Nilai ambang tersebut digunakan untuk membagi citra *grayscale* menjadi dua kelompok, yaitu kelompok objek dan kelompok latar belakang. Metode Otsu memilih nilai ambang yang menghasilkan pemisahan paling baik antara kedua kelompok tanpa menentukan nilai ambang secara manual [4], [10].

Setelah citra berwarna RGB dikonversi menjadi citra *grayscale*, setiap piksel pada citra memiliki nilai tingkat keabuan tertentu. Nilai tersebut kemudian disusun dalam bentuk histogram untuk menunjukkan jumlah piksel pada setiap tingkat keabuan. Histogram inilah yang digunakan sebagai dasar perhitungan metode Otsu dalam menentukan nilai ambang optimal antara objek dan latar belakang [4].

Tahap pertama dalam perhitungan metode Otsu adalah menentukan probabilitas kemunculan setiap tingkat keabuan. Apabila n_{in_ini} merupakan jumlah piksel yang memiliki tingkat keabuan i , sedangkan N merupakan jumlah keseluruhan piksel pada citra, maka probabilitas tingkat keabuan iii dapat dihitung menggunakan Persamaan (2.1). [4]

$$p_i = \frac{N}{n_i} \quad (2.1)$$

Keterangan :

p_i = probabilitas piksel pada tingkat keabuan i ,

n_i = jumlah piksel pada tingkat keabuan i ,

N = jumlah seluruh piksel dalam citra

Setelah probabilitas setiap tingkat keabuan diperoleh, nilai ambang t digunakan untuk membagi piksel menjadi dua kelas. Kelas pertama, yaitu C_0 , terdiri atas piksel dengan tingkat keabuan dari 0 sampai t , sedangkan kelas kedua, yaitu C_1 , terdiri atas piksel dengan tingkat keabuan dari $t + 1$ sampai $L - 1$. Simbol L menunjukkan jumlah tingkat keabuan dalam citra. Pada citra 8-bit, nilai L adalah 256 sehingga tingkat keabuan tertinggi adalah $L - 1 = 255$ [4].

Bobot atau probabilitas setiap kelas dihitung menggunakan Persamaan (2.2) dan Persamaan (2.3) [4].

$$\omega_{0(t)} = \sum_{i=0}^t p_i \quad (2.2)$$

$$\omega_{1(t)} = \sum_{i=t+1}^{L-1} p_i \quad (2.3)$$

Pada persamaan tersebut, $\omega_{0(t)}$ merupakan bobot kelas C_0 , sedangkan $\omega_{1(t)}$ merupakan bobot kelas C_1 . Simbol $\sum$ menunjukkan operasi penjumlahan nilai probabilitas piksel pada rentang tingkat keabuan tertentu. Jumlah kedua bobot kelas tersebut memenuhi hubungan:

$$\omega_{0(t)} + \omega_{1(t)} = 1 \quad (2.3)$$

Keterangan :

$\omega_{0(t)}$ = probabilitas piksel yang masuk ke kelas C_0 ,

$\omega_{1(t)}$ = probabilitas piksel yang masuk ke kelas C_1 ,

t = nilai ambang yang sedang diuji,

T = jumlah tingkat keabuan citra.

Setelah bobot masing-masing kelas diperoleh, tahap berikutnya adalah menghitung nilai rata-rata intensitas piksel pada setiap kelas. Rata-rata intensitas kelas C_0 dan C_1 kelas dihitung menggunakan persamaan berikut [4].

$$\mu_{0(t)} = \frac{\sum_{i=0}^t ip_i}{\omega_{0(t)}} \quad (2.4)$$

$$\mu_{1(t)} = \frac{\sum_{i=t+1}^{L-1} ip_i}{\omega_{1(t)}} \quad (2.5)$$

Keterangan :

$\mu_{0(t)}$ = rata-rata intensitas piksel pada kelas C_0 ,

$\mu_{1(t)}$ = rata-rata intensitas piksel pada kelas C_1 ,

ip_i = nilai intensitas dikalikan probabilitas kemunculannya

Pada persamaan tersebut, $\mu_{0(t)}$ merupakan rata-rata intensitas piksel pada kelas C_0 , sedangkan $\mu_{1(t)}$ merupakan rata-rata intensitas piksel pada kelas C_1 . Perkalian ip_i menunjukkan nilai tingkat keabuan yang dikalikan dengan probabilitas kemunculannya.

Nilai bobot dan rata-rata intensitas kedua kelas kemudian digunakan untuk menghitung varians antarkelas atau *between-class variance*. Varians antarkelas menunjukkan tingkat perbedaan antara kelompok piksel objek dan kelompok piksel latar belakang. Perhitungannya dinyatakan dalam Persamaan (2.6) [4].

$$\sigma_B^{2(t)} = \omega_{0(t)} \times \omega_{1(t)} \times (\mu_{0(t)} - \mu_{1(t)})^2 \quad (2.6)$$

Keterangan :

$\sigma_B^{2(t)}$ = varians antarkelas pada nilai ambang t ,

Pada persamaan tersebut, $\sigma_B^{2(t)}$ merupakan varians antarkelas pada nilai ambang t . Semakin besar nilai varians antarkelas, semakin besar pula perbedaan antara rata-rata intensitas kelas objek dan latar belakang. Oleh karena itu, nilai ambang optimal dipilih dari nilai t yang menghasilkan varians antarkelas paling besar [4].

$$t^* = \operatorname{argmax}_t \sigma_B^{2(t)} \quad (2.7)$$

Keterangan :

t^* = nilai ambang optimal yang menghasilkan varians antarkelas terbesar.

Simbol t^* menunjukkan nilai ambang optimal, sedangkan argmax menunjukkan proses pencarian nilai t yang menghasilkan nilai $\sigma_B^{2(t)}$ paling besar. Nilai ambang tersebut selanjutnya digunakan untuk mengubah citra *grayscale* menjadi citra biner, yaitu citra yang hanya terdiri atas kelompok objek dan latar belakang [4].

Dalam penelitian identifikasi fokus mikroskop digital, perhitungan nilai ambang Otsu dilakukan pada setiap citra yang diperoleh selama perubahan jarak antara objek dan lensa objektif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa citra yang semakin fokus cenderung menghasilkan nilai ambang Otsu yang semakin kecil. Meskipun demikian, nilai tersebut juga dipengaruhi oleh intensitas pencahayaan dan perbandingan luas objek terhadap latar belakang citra [4].

2.10 Evaluasi Kurva Fokus

Kurva fokus menggambarkan hubungan antara posisi pemindaian dan nilai ketajaman citra (*focus score*). Perubahan posisi fokus menghasilkan perubahan kejelasan detail objek, sehingga nilai ketajaman pada sejumlah posisi dapat digunakan untuk memperkirakan letak fokus terbaik. Kurva fokus umumnya memiliki puncak di sekitar posisi yang menghasilkan citra paling tajam [7].

Puncak kurva perlu dievaluasi bersama bentuk kurva di sekitarnya. Derau citra, kontras objek, dan ukuran area yang dianalisis dapat memengaruhi nilai ketajaman serta kejelasan puncak. Karena itu, nilai maksimum saja belum cukup untuk menggambarkan keandalan hasil pemindaian fokus [4].

Evaluasi kurva fokus dapat dilakukan dengan membandingkan nilai puncak terhadap nilai pada posisi lain serta mengamati respons fokus di sekitar puncak. Perbandingan tersebut membantu menilai apakah posisi terbaik ditunjukkan oleh

perubahan nilai yang jelas dan konsisten. Dasar evaluasi ini digunakan dalam pembahasan kualitas makro relatif, rasio kualitas objektif, dan nilai fokus lokal pada subbab berikutnya [6], [7].

2.10.1 Kualitas Relatif Kurva Fokus

Kualitas relatif kurva fokus menunjukkan seberapa tinggi nilai puncak dibandingkan dengan nilai acuan dari kurva yang sama. Perbandingan tersebut membantu menggambarkan apakah puncak fokus tampak jelas selama pemindaian. Median seluruh nilai fokus pada lintasan pemindaian digunakan sebagai nilai acuan dalam ukuran evaluasi ini.

Untuk suatu kurva fokus yang dinyatakan dengan indeks j , kualitas relatif dihitung menggunakan Persamaan (2.8).

$$Q_j = \frac{F_{maks}}{F_{median}} \quad (2.8)$$

Q_j = kualitas makro relatif pada objektif j ;

F_{maks} = focus score maksimum yang telah diverifikasi pada objektif j ;

F_{median} = median seluruh focus score selama pemindaian makro objektif j ; dan

j = objektif 4× atau 10×.

Nilai Q_j yang lebih besar menunjukkan bahwa puncak kurva lebih tinggi dibandingkan dengan nilai tengahnya. Nilai tersebut perlu ditinjau bersama bentuk kurva dan citra pada posisi puncak [4], [6]. Persamaan (2.8) dikembangkan sebagai ukuran evaluasi relatif kurva fokus. Perhitungan Q_j hanya dapat dilakukan apabila $F_{median,j}$ tidak bernilai nol.

2.10.2 Nilai Fokus di Sekitar Puncak

Nilai maksimum menggambarkan respons fokus pada satu posisi pemindaian. Sejumlah nilai fokus di sekitar puncak dapat dianalisis bersama untuk melihat respons pada posisi yang berdekatan. Rentang posisi yang dipilih memengaruhi jumlah titik dan hasil evaluasi [4].

Misalkan $z_{\text{terbaik},j}$ merupakan posisi dengan nilai fokus tertinggi pada kurva ke- j . Himpunan titik pemindaian yang berada dalam jarak Δ dari posisi tersebut dinyatakan dengan Persamaan (2.9).

$$S_j(\Delta) = \{i \mid |z_i - z_{\text{terbaik},j}| \leq \Delta\} \quad (2.9)$$

Rata-rata nilai fokus pada himpunan tersebut dihitung menggunakan Persamaan (2.10).

$$L_j(\Delta) = \frac{[\sum_{i \in S_j(\Delta)} F_j(z_i)]}{N_j(\Delta)} \quad (2.10)$$

$S_j(\Delta)$ = himpunan indeks titik pemindaian di sekitar posisi terbaik pada kurva ke- j ;

z_i = posisi titik pemindaian ke- i ;

$z_{\text{terbaik},j}$ = posisi dengan nilai fokus tertinggi pada kurva ke- j ;

Δ = jarak evaluasi dari posisi fokus terbaik;

$F_j(z_i)$ = nilai focus score kurva ke- j pada posisi z_i ;

$N_j(\Delta)$ = jumlah titik dalam himpunan $S_j(\Delta)$; dan

$L_j(\Delta)$ = rata-rata focus score di sekitar puncak kurva ke- j .

2.11 Embarcadero Delphi

Embarcadero Delphi merupakan lingkungan pengembangan perangkat lunak (*Integrated Development Environment* atau IDE) yang menggunakan bahasa pemrograman Object Pascal. IDE ini menyediakan penyunting kode, perancang antarmuka visual (*Form Designer*), dan komponen yang dapat ditempatkan pada formulir aplikasi. Komponen tersebut memungkinkan antarmuka disusun secara visual sebelum perilakunya ditentukan melalui kode program [13].

Setiap komponen memiliki properti yang mengatur tampilan atau perilakunya, serta *event* yang dapat dihubungkan dengan prosedur penanganan (*event handler*). Melalui *Object Inspector*, pengembang dapat mengatur properti dan membuat penanganan kejadian, misalnya ketika pengguna menekan tombol. Dengan cara ini, aplikasi menjalankan bagian program yang sesuai saat suatu kejadian terjadi [13].

Delphi juga menyediakan komponen visual dan nonvisual. Komponen visual digunakan untuk menyusun tampilan dan menerima masukan pengguna, sedangkan komponen nonvisual dapat digunakan untuk mendukung fungsi aplikasi tanpa

ditampilkan pada formulir. Pemilihan komponen disesuaikan dengan kebutuhan antarmuka serta proses yang dijalankan oleh perangkat lunak [13].

2.12 Arduino IDE

Arduino IDE merupakan salah satu lingkungan yang dapat digunakan untuk menulis dan mengunggah program ke mikrokontroler. Hercog dkk. menjelaskan bahwa ESP32 dapat diprogram menggunakan Arduino IDE dengan bahasa pemrograman C++. Lingkungan tersebut memungkinkan pengembang menyiapkan program sesuai fungsi yang akan dijalankan perangkat [8].

Program yang telah dibuat diunggah dari komputer menuju papan mikrokontroler. Setelah program berjalan, data tertentu dapat diamati melalui Serial Monitor untuk membantu pemeriksaan kerja perangkat. Penggunaan pengunggahan program dan pemantauan variabel melalui Serial Monitor juga dijelaskan dalam pengembangan perangkat berbasis ESP32 oleh Hercog dkk. [8].

Arduino IDE telah digunakan untuk memprogram pengendali pada sistem gerak bermotor. Wahjudi dan Yusuf melaporkan penggunaan Arduino IDE untuk memprogram pengendali pada sistem mesin CNC yang memakai motor stepper. Contoh tersebut menunjukkan penggunaan Arduino IDE dalam pengembangan program kendali gerak [10].