

**ANALISA PEREKAMAN DAN REKONSTRUKSI HOLOGRAFI
DIGITAL MIKROSKOPIK PADA KACA PREPARAT
MENGUNAKAN METODE *IN-LINE***

Marlan Hasibuan¹, Minarni², Zulkarnain²

¹Mahasiswa Jurusan Fisika

²Dosen Jurusan Fisika

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kampus Binawidya Pekanbaru 28293, Indonesia

Spectrum25prism@gmail.com

ABSTRACT

This research applied in-line holography method and digital technique to record and reconstruct hologram. This method was used to create the holograms from two microscopic objects. The recording was done using a laser with a wavelength of 650 nm. The samples in microscopic slide used were cross section of hibiscus flower stem and leaves of citrus, CMOS camera was used as image recorder. The laser power was varied using 5 ND filters with its power of 3,6 mW, 2,24 mW, 1,2 mW, 0,36mW 0,047 mW and 0,005 mW and also without ND filter. The distance between beam expander and samples was varied and the magnification of objective lens used were also varied at magnification level of 10x, 40x, and 100x. The results of recording were reconstructed using holovision software and were then analyzed using ImageJ to find the grayscale average value. The final results of this research showed that the higher power of laser resulted in holograms with better clarity by the percentage difference between the highest and the lowest grayscale average value of 75 %. The distance between beam expander and samples influenced the intensity on samples, and the closer the lens to the samples, the higher the intensity on samples resulted in holograms with better clarity. Lens with magnification of 100x produced hologram with the best clarity over all the lens by 28 % of the percentage difference of grayscale average value.

Keywords : Microscopic Digital Holography, In-line Holography Method, Laser Power Variation, Holovision, Preparation Samples

ABSTRAK

Penelitian ini menerapkan metode holografi *in-line* dengan perekaman dan rekonstruksi menggunakan teknik digital. Metode ini digunakan untuk membuat hologram dari benda mikroskopik. Perekaman dilakukan menggunakan laser dengan panjang gelombang 650 nm, sampel preparat yang digunakan adalah penampang batang bunga kembang sepatu dan preparat penampang daun jeruk, kamera CMOS digunakan sebagai perekam gambar. Daya

perekaman di variasikan menggunakan 5 buah filter ND dan tanpa filter ND dengan daya berturut turut 3,6 mW, 2,24 mW, 1,2 mW, 0,36mW 0,047 mW dan 0,005 mW, jarak antara lensa pengekspansi dengan sampel divariasikan, dan perbesaran lensa objektif yang di gunakan divariasikan dengan perbesaran berturut-turut 10x, 40x, dan 100x. Hasil perekaman kemudian direkonstruksi menggunakan program holovision dan hasil rekonsturksi dianalisa menggunakan program *Image J* untuk mendapatkan nilai rata-rata *grayscale*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin besar daya yang digunakan maka semakin jelas hologram yang dihasilkan, persentasi perbedaan antara nilai rata-rata *grayscale* tertinggi dengan nilai rata-rata *grayscale* terendah adalah sebesar 75 %. Jarak antara lensa pengekspansi terhadap sampel memiliki pengaruh terhadap nilai intensitas yang mengenai sampel, semakin dekat lensa ke sampel maka semakin besar intensitas yang mengenai sampel sehingga hologram yang dihasilkan semakin jelas. Lensa dengan perbesaran 100x menghasilkan hologram yang paling jelas di antara semua lensa dengan persentasi perbedaan nilai rata-rata *grayscale* sebesar 28 %.

Kata Kunci : Holografi Digital Mikroskopik, metode hologafi *in-line*, variasi daya laser, Holovision, sampel preparat

PENDAHULUAN

Teknik perekaman gambar secara 3 dimensi telah berkembang sejak lama. Teknik perekaman gambar pada sebuah medium secara permanen pertama kali di temukan pada tahun 1826, yang terdiri dari alat pembentuk gambar, kamera obskuras dengan kertas fotosensitif. Teknik perekaman ini disebut dengan fotografi, dan gambar hasil rekaman disebut dengan foto 2 dimensi. Selanjutnya pada tahun 1947 teknik perekaman gambar secara 3 dimensi ditemukan menggunakan prinsip interferensi antara sinar yang terdifraksi dari sebuah benda dan sinar referensi. Teknik perekaman secara 3 dimensi ini disebut dengan holografi (Saxby, 2004).

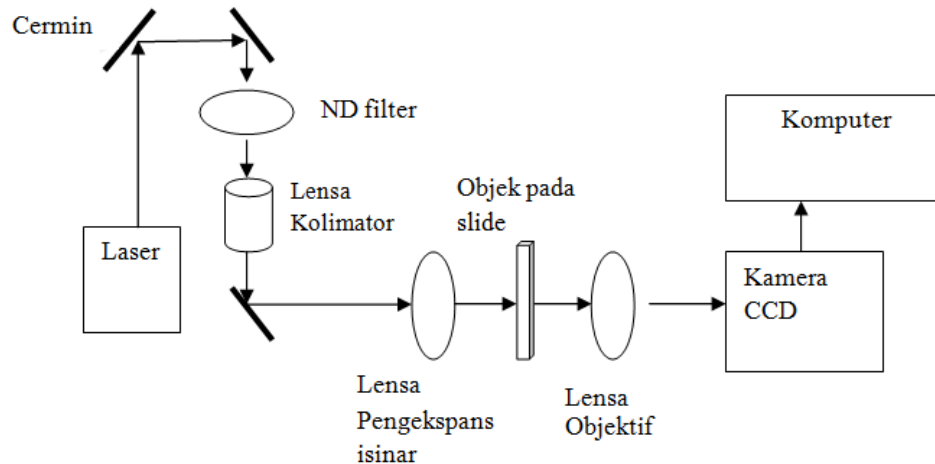
Ditinjau dari teknik perekamannya, holografi terbagi dalam dua jenis yaitu holografi *in-line* dan holografi *off-axis*. Holografi *in-line* adalah holografi yang dalam perekamannya melewati sinar menembus objek transparan yang kemudian pola interferensi yang di

hasilkan di rekam. Holografi *off-axis* adalah holografi yang perekamannya dengan cara menyinari objek, sinar pantulan dari objek di pertemuan dengan sinar referensi pada plat perekaman. Kelebihan dari perekaman metode *in-line* yaitu koherensi tidak menjadi masalah karena jarak tempuh sinar objek dan sinar referensi tidak terlalu besar (Garber, 2004).

Seiring dengan perkembangan zaman, media digital mulai digunakan dalam holografi melahirkan holografi digital dan *Computer Generated Holography* (CGH). Secara tradisional, Hologram direkam menggunakan sebuah film dan direkonstruksi secara manual menggunakan sinar referensi, sehingga perekaman dan rekonstruksi secara *real-time* tidak dapat dilakukan, tetapi dengan bantuan media digital, perekaman dan rekonstruksi holografi mendekati *real-time* karena tidak memerlukan rekonstruksi secara manual menggunakan sinar referensi. Holografi digital adalah holografi yang proses perekaman dan

rekonstruksinya dilakukan secara digital, sedangkan CGH adalah holografi yang membentuk hologram secara digital, rekonstruksinya dapat dilakukan secara digital maupun konvensional

laser, jarak *beam expander* terhadap sampel dan perbesaran lensa yang divariasikan. Perekaman dilakukan menggunakan kamera CCD yang kemudian hasil dari perekaman



Gambar 1. Skema sistem holografi mikroskopik metode *in-line*.

menggunakan proses fisik dan kimia (Kim, 2010). Holografi digital ini masih memerlukan banyak pengembangan sehingga penerapannya dalam berbagai aspek menjadi lebih matang.

Holografi memiliki aplikasi yang sangat luas, tidak terkecuali pada bidang biologi yang memanfaatkan holografi pada mikroskopi untuk meneliti mikroorganisme dengan tampilan 3 dimensi (Xu et al, 2001). Holografi mikroskopik memiliki kelebihan jika dibandingkan dengan teknik mikroskopik biasa yaitu dapat menampilkan gambar mikro organisme dalam bentuk tiga dimensi, sehingga informasi yang di dapat lebih lengkap.

Penelitian ini menggunakan metode holografi digital *in-line* dalam melakukan pencitraan dari objek mikro yaitu preparat penampang tumbuhan pada kaca preparat, menggunakan laser dengan panjang gelombang 650 nm dengan daya

direkonstruksi secara numerik menggunakan program Matlab. Hasil rekonstruksi kemudian diolah dan dianalisa. Analisa kualitas dan nilai rata-rata *grayscale* gambar dilakukan menggunakan program ImageJ yang kemudian hasil-hasil tersebut dibandingkan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan laser dengan panjang gelombang 650 nm (merah). Cermin dan lensa berfungsi sebagai pengatur arah sinar dan ukuran berkas sinar sehingga memenuhi kebutuhan perekaman. Pola-pola interferensi direkam menggunakan kamera CMOS 3 MP yang dihubungkan dengan komputer. Program ImageJ digunakan untuk menganalisa hubungan antara nilai rata-rata *grayscale* dari hasil

rekonstruksi dengan perlakuan pada saat perekaman.

Tahapan awal penelitian di mulai dari persiapan alat dan bahan. Bahan sampel yang digunakan untuk penelitian adalah preparat penampang batang bunga kembang sepatu dan preparat penampang daun jeruk, pada bagian atas cover tip di lapiasi minyak imersen yang berfungsi untuk menghilangkan perbedaan indeks bias antara udara dengan cover tip sehingga sampel dapat terlihat lebih jelas.

Tahap kedua yaitu penyusunan alat, alat disusun sesuai dengan yang diperlihatkan pada Gambar 1. Tahap ketiga yaitu perekaman menggunakan laser dengan panjang gelombang 650 nm. Sebelum merekam objek, terlebih dahulu arah sinar laser diatur menggunakan cermin agar tepat mengenai pusat lensa, selanjutnya jarak antara alat-alat di atur sehingga terjadi pola interferensi yang di inginkan pada layar, setelah di dapatkan pola interferensi, daya laser divariasikan menggunakan ND filter, merubah rubah jarak pengekspansi sinar dan menggunakan lensa objektif, kemudian pola interferensi yang terjadi direkam menggunakan kamera CCD dan disimpan ke dalam komputer. Tahap keempat yaitu proses rekonstruksi menggunakan program Holovision, proses rekonstruksi dilakukan menggunakan metode Fresnel. Sebelum perekaman, informasi mengenai parameter parameter yang digunakan seperti panjang gelombang, jarak dari benda ke kamera dan ukuran pixel gambar yang diinginkan harus di masukkan ke dalam program, setelah

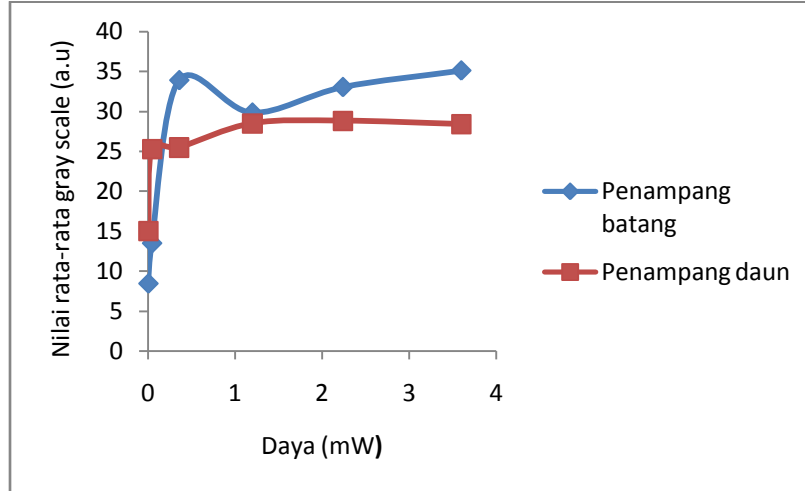
direkonstruksi hologram di analisa menggunakan program ImageJ.

HASIL DAN PEMBAHASAN

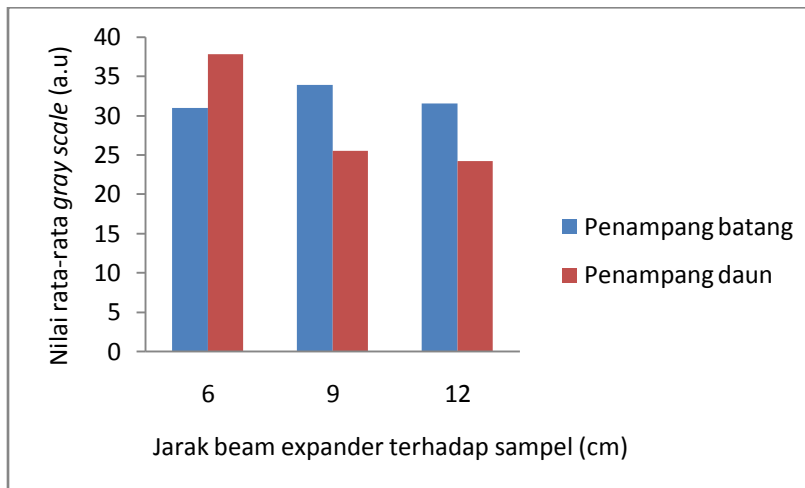
Pada penelitian ini 3 perlakuan yang berbeda dilakukan. Perlakuan pertama yaitu perekaman dilakukan dengan memvariasikan daya laser. Jarak *beam expander* 9cm terhadap sampel dan perbesaran lensa yang digunakan sebesar 100x untuk sampel penampang batang bunga kembang sepatu dan 40x untuk sampel penampang daun jeruk.

Hasil rekonstruksi menunjukkan terjadinya penurunan nilai rata-rata *grayscale* untuk tiap penurunan daya laser yang digunakan. Penurunan ini dapat dilihat pada gambar 2.

Nilai *grayscale* paling tinggi pada sampel penampang batang bunga kembang sepatu yaitu 35,110 a.u dan untuk sampel penampang daun jeruk, nilai rata-rata *grayscale* tertingginya yaitu 28.818 a.u. Terjadi penurunan nilai rata-rata *grayscale* untuk tiap penurunan daya dengan nilai terendah 8,442 a.u pada sampel penampang batang bunga kembang sepatu dan 15,042 a.u pada sampel penampang daun jeruk. Nilai rata rata *grayscale* yang merupakan skala kualitas gambar menurun seiring menurunnya daya laser yang digunakan. Pengurangan ini diakibatkan oleh berkurangnya kontras terang-gelap antara frinji-frinji hologram yang bergantung pada intensitas dari sinar laser yang di gunakan, semakin besar intensitas laser maka intensitas minimum dan maksimum frinji akan memilik perbedaan nilai intensitas yang semakin besar.



Gambar 2. Hubungan nilai rata-rata *grayscale* dengan daya laser untuk sample preparat penampang batang bunga kembang sepatu dan penampang daun jeruk.



Gambar 3. Hubungan nilai rata-rata *grayscale* dengan jarak *beam expander* terhadap sampel untuk sample preparat penampang batang bunga kembang sepatu dan sampel daun jeruk.

Perlakuan kedua yaitu perekaman dilakukan dengan memvariasikan jarak *beam expander* terhadap sampel. Daya laser yang digunakan sebesar 0,36 mW dan perbesaran lensa yang digunakan sebesar 100x untuk sampel penampang

batang bunga kembang sepatu dan 40x untuk sampel penampang daun jeruk.

Hasil rekonstruksi menunjukkan bahwa jarak *beam expander* terhadap sampel memiliki pengaruh terhadap nilai intensitas sinar laser yang mengenai sampel. Pengaruh jarak *beam expander*

terhadap sampel dapat dilihat pada gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan nilai rata-rata *grayscale* gambar hasil rekonstruksi perekaman sample penampang batang bunga kembang sepatu dengan variasi jarak *beam expander* terhadap sample perekaman 6 cm, 9cm, 1,6 mW, dan 12 cm berturut turut adalah 30,954 a.u, 33,898 a.u dan 31,547 a.u. Nilai *grayscale* paling tinggi didapatkan dari gambar hasil rekonstruksi dengan jarak perekaman 9 cm, sedangkan nilai terendah yaitu 30,954 didapatkan dari gambar hasil rekonstruksi dengan jarak perekaman 6 cm.

Dari Gambar 3 dapat terlihat nilai rata-rata *grayscale* gambar hasil rekonstruksi perekaman sample penampang daun jeruk dengan variasi jarak *beam expander* terhadap sample perekaman 6 cm, 9cm, dan 12 cm berturut turut adalah 37,840 a.u, 25,501 a.u dan 24,227 a.u. Nilai rata-rata *grayscale* paling tinggi didapatkan dari gambar hasil rekonstruksi dengan jarak perekaman 6 cm, sedangkan hasil perekaman dengan jarak perekaman lainnya menunjukkan penurunan nilai rata-rata *grayscale* dengan nilai terendah 24,227 a.u didapatkan dari gambar hasil rekonstruksi dengan jarak perekaman 12 cm.

Perubahan jarak antara *beam expander* dengan sampel memiliki pengaruh terhadap besarnya intensitas yang mengenai sampel, karena sinar yang memasuki *beam expander* akan mengalami perbesaran luas permukaan berkas.

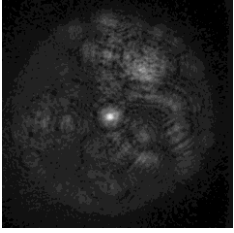
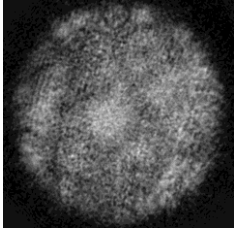
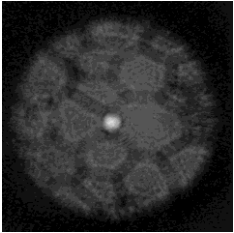
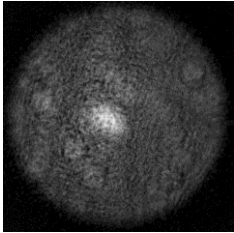
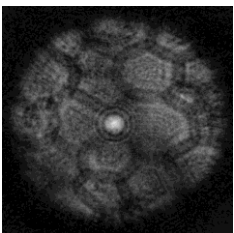
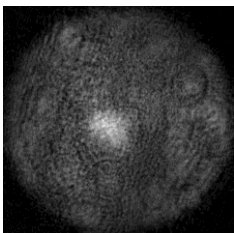
Tabel 1 memperlihatkan gambar hasil rekonstruksi sampel penampang bunga kembang sepatu dengan jarak lensa pengekspansi 6 cm dengan nilai rata-rata

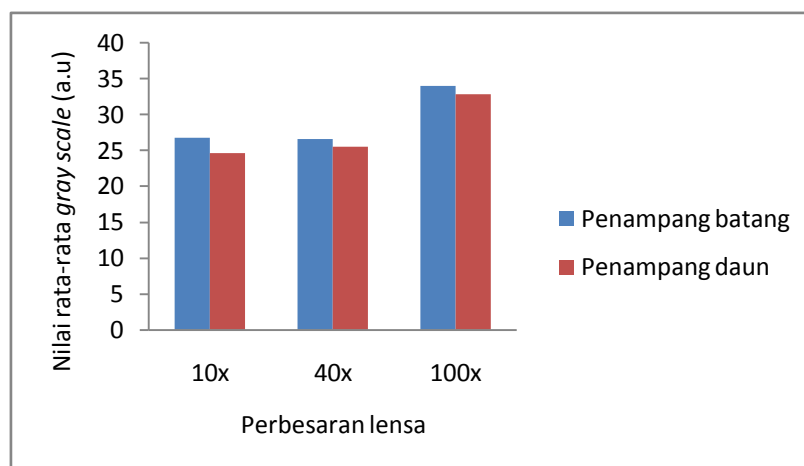
gray scale 30,954 a.u memiliki kualitas gambar yang lebih rendah dari gambar hasil rekonstruksi dengan jarak *beam expander* 9 cm dengan nilai rata-rata gray scale 33,898 a.u, hal ini di akibatkan oleh sinar laser pada jarak 6 cm memiliki intensitas yang sangat besar sehingga perbedaan antara intensitas maksimum dengan intensitas minimum frinji terlalu besar yang mengakibatkan pola frinji minimum tidak terekam dengan jelas. Penurunan kualitas gambar pada jarak 12 cm diakibatkan oleh berkurangnya intensitas sinar laser yang mengakibatkan berkurangnya kontras dari frinji-frinji hologram, hal ini dapat dilihat pada Gambar 3, di mana terjadi kenaikan dan penurunan nilai rata-rata *grayscale* pada sampel penampang batang bunga kembang sepatu.

Pengaruh jarak *beam expander* pada sampel penampang daun jeruk memiliki hubungan yang sama dengan pengaruh daya terhadap hasil perekaman dan rekonstruksi seperti yang terlihat pada Gambar 2, semakin tinggi intensitas sinar maka semakin baik hasil perekaman dan rekonstruksi yang didapat.

Perbedaan hasil antara sampel penampang batang bunga kembang sepatu dan sampel penampang daun jeruk ini terjadi karena penampang batang bunga kembang sepatu memiliki rongga sel yang lebih besar dari rongga sel penampang daun jeruk, sehingga intensitas sinar lebih banyak dilewatkan oleh sampel penampang batang bunga kembang sepatu dari pada sampel penampang daun jeruk.

Tabel 1. Hasil rekonstruksi sampel penampang batang bunga kembang sepatu dan sampel penampang daun jeruk pada variasi jarak *beam expander* terhadap sampel.

No	Jarak (cm)	Penampang batang bunga kembang sepatu	Penampang daun jeruk
1	6		
2	9		
3	12		



Gambar 4. Hubungan nilai rata-rata *grayscale* dengan perbesaran lensa objektif untuk sampel preparat penampang batang bunga kembang sepatu.

Perlakuan ketiga yaitu perekaman dilakukan dengan memvariasikan perbesaran lensa objektif. Daya laser yang digunakan sebesar 0,36 mW dan jarak *beam expander* terhadap sampel sebesar 9 cm.

Gambar 4 menunjukkan nilai rata-rata *grayscale* gambar hasil rekonstruksi perekaman sample penampang batang bunga kembang sepatu dengan variasi perbesaran lensa objektif 10x, 40x, dan 100x berturut turut adalah 26,712 a.u, 26,562 a.u dan 33,898 a.u. Nilai rata-rata *grayscale* paling tinggi didapatkan dari gambar hasil rekonstruksi dengan perbesaran lensa 100x. Gambar hasil rekonstruksi dari perekaman dengan perbesaran lensa 10x dan 40x tidak menunjukkan perubahan yang signifikan.

Gambar 4 juga menunjukkan nilai rata-rata *grayscale* gambar hasil rekonstruksi perekaman sample penampang daun jeruk dengan variasi perbesaran lensa objektif 10x, 40x, dan 100x berturut turut adalah 24,569 a.u, 25,501 a.u, dan 32,808 a.u. Nilai rata-rata *grayscale* meningkat untuk tiap kenaikan perbesaran lensa dengan nilai tertinggi 32,808.

Gambar 4 memperlihatkan bahwa pada penggunaan lensa dengan perbesaran 100x menghasilkan gambar dengan nilai rata rata *grayscale* paling besar dibandingkan dengan nilai rata-rata *grayscale* hasil rekonstruksi dengan menggunakan lensa dengan perbesaran 10 x dan 40x. Perbedaan nilai ini diakibatkan oleh frinji-frinji hologram hasil perekaman dengan menggunakan lensa 100x memiliki spasial antara frinji yang lebih besar, sehingga terekam dengan jelas oleh kamera. Perekaman dengan menggunakan perbesaran 10x dan 40x, jarak antara frinjinya terlalu dekat

sehingga hologram yang direkam memiliki frinji yang kurang jelas jika dibandingkan dengan penggunaan lensa 100x. Lensa 10x dan 40x memiliki nilai perbesaran yang tidak terlalu jauh sehingga tidak terjadi perubahan nilai rata-rata *grayscale* yang signifikan.

KESIMPULAN

Analisa perekaman dan rekonstruksi holografi digital mikroskopik dengan menggunakan laser dioda, kamera CMOS, dan pengolahan menggunakan komputer telah berhasil menganalisa pengaruh daya laser, jarak *beam expander* dan perbesaran lensa objektif terhadap kualitas gambar hasil rekonstruksi.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa hasil perekaman untuk variasi daya memperlihatkan semakin tinggi daya yang di gunakan maka semakin baik hologram yang dihasilkan, sehingga hasil rekonstruksi yang didapatkan semakin jelas. Laser dengan daya 3.6 mW merupakan daya optimum dalam penelitian ini karena memberikan nilai rata-rata *grayscale* tertinggi, penurunan nilai rata-rata gray scale secara signifikan dapat dilihat pada daya 0.005 mW dimana terjadi penurunan nilai rata-rata gray scale sebesar 75 %.

Jarak *beam expander* terhadap sampel mempengaruhi jumlah intensitas yang mengenai sampel, semakin jauh jarak lensa terhadap sampel maka semakin kecil nilai intensitas yang mengenai sampel. Jarak optimum dalam penelitian ini adalah 6 cm, dimana pada jarak ini dihasilkan hologram dengan nilai rata-rata *grayscale* tertinggi, sementara itu pada jarak 12 cm terjadi penurunan

nilai rata-rata *grayscale* dengan penurunan sebesar 35 %.

Hasil rekaman memperlihatkan bahwa pola-pola interferensi semakin terlihat jelas dengan bertambahnya kekuatan lensa yang digunakan, sehingga gambar hasil rekonstruksi semakin terlihat jelas. Pada penelitian ini hasil yang optimum di dapatkan dengan menggunakan lensa 100x, sedangkan pada penggunaan lensa 40x dan 10x terjadi penurunan nilai rata-rata *grayscale* sebesar 28 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Garber, D. 2004. *Digital Holography using a Laser Pointer and Consumer Digital Camera*. Melalui [http : //Pegasus.me.jhu.edu/~lefd/shc/LP_holo /lphindex .htm](http://Pegasus.me.jhu.edu/~lefd/shc/LP_holo/lphindex.htm) diakses pada tanggal 20 oktober 2015
- Kim, M. K. 2010. *Principles and Techniques of Digital Holographic Microscopy*. SPIE Reviews Vol. 1, 2010. 1946-1957
- Saxby, G. 2004. *Practical Holography, 3rd Ed.* London: Institute of Physics Publishing.
- Xu, W., Jericho M. H., Meinertzhagen I. A., Kreuzer H. J. 2001. *Digital In-Line Holography for Biological Applications*. PNAS vol. 98 no. 20. 11301-11305

