

Segmentasi Citra Digital Objek Hasil Pengamatan *In Situ* *Localization* Gen *gfp* pada Tanaman Transforman

Firas Atqiya¹, Nisa Ihsani², Muhammad Rizqi Sholahuddin³, Fenny Martha Dwivany⁴,
dan Sony Suhandono⁴

¹) Prodi Teknik Informatika, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung

²) Prodi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung
Jl. Soekarno-Hatta No. 752, Cipadung Kidul, Kecamatan Panyileukan, Kota Bandung
Email: firasatqiya@umbandung.ac.id, nisaihsani@umbandung.ac.id

³) Jurusan Teknik Komputer dan Informatika, Politeknik Negeri Bandung
Jl. Gegerkalong Hilir, Ciwaruga, Kecamatan Parongpong, Kabupaten Bandung Barat
Email: muhammad.rizqi@polban.ac.id

⁴) Sekolah Ilmu Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha no.10, Lb. Siliwangi, Kecamatan Coblong, Kota Bandung
Email: fenny@sith.itb.ac.id, sony@sith.itb.ac.id

ABSTRAK

Penelitian berbasis biomolekuler membutuhkan beragam penggunaan perangkat lunak pengolah data. Salah satunya yaitu kebutuhan perangkat lunak yang mampu mengolah data citra digital pada proses segmentasi warna. Dalam penelitian biomolekuler, segmentasi warna dapat digunakan untuk menganalisis pendaran warna hijau sebagai hasil ekspresi gen *gfp*. Gen pelapor ini banyak digunakan dalam proses rekayasa genetik tumbuhan maupun hewan yaitu: memonitor ekspresi gen, *in situ localization*, biosensor, *physiological indicators*, dan studi interaksi protein. Sinar UV pada panjang gelombang eksitasi 450-490 nm dapat diserap dan diemisikan oleh molekul protein GFP sebagai warna hijau. Adanya pendaran hijau tersebut diharapkan hanya muncul sebagai penanda terekspresinya gen *gfp*. Namun demikian, pada sampel tumbuhan terkandung senyawa metabolit sekunder yang dapat menyerap dan mengemisikan sinar UV sebagai warna hijau. Adanya warna hijau selain hasil ekspresi gen *gfp* ini tentunya dapat menyebabkan hasil analisis *in situ localization* menjadi bias. Oleh karena itu, diperlukan teknik pengolahan citra digital yang mampu memilah warna hijau hasil ekspresi gen *gfp* dan warna hijau dari emisi senyawa metabolit tumbuhan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memisahkan objek hasil ekspresi gen *gfp* pada citra digital jagung transforman dengan warna hijau yang diemisikan oleh senyawa metabolit sekunder jagung menggunakan pengolahan citra digital. Proses yang digunakan adalah *color filtering*, *thresholding*, dan *Canny edge detection*. Hasil penelitian yang diperoleh berupa citra yang mengandung citra objek hasil ekspresi gen *gfp* yang telah tersegmentasi pada sayatan melintang akar jagung transforman.

Kata kunci: *gfp*, *color filtering*, *canny edge*, transformasi

ABSTRACT

*Biomolecular research requires various software for data analyses. Color segmentation is one of the most necessary programmes in biomolecular research. It can be used for analyzing *gfp* gene expression that exhibits green fluorescence when exposed to the UV light. The *gfp* gene is commonly used for either plant or animal genetic engineering researches in monitoring gene expression, *in situ localization*, biosensors, *physiological indicators*, and protein interactions studies. GFP protein exhibits bright green fluorescence under the excitation of UV light at 450-490 nm wavelength. It was expected as the only of green color as the result of *gfp* gene expression. However, the plant has many secondary metabolite compounds that exhibit green colour when illuminated by UV light at 450-490 nm wavelength. Therefore, it can interfere with data analyzing of green fluorescence of *gfp*. This research aimed to separate the green color of GFP protein and secondary metabolite compounds in maize root at cross section using digital image processing. The image processing that used is *color filtering*, *thresholding*, and *Canny edge detection*. The result of this research is the form of an image that contain the segmented object of *gfp* gene expression in maize root at cross section.*

Keywords: *gfp*, *color filtering*, *canny edge*, transformation

1. Pendahuluan

Seiring dengan berkembangnya penelitian berbasis biomolekuler, tuntutan penggunaan perangkat lunak pengolah data semakin meningkat. Salah satunya yaitu kebutuhan perangkat lunak yang mampu mengolah data citra digital pada proses segmentasi warna. Dalam penelitian biomolekuler, segmentasi warna dapat digunakan untuk menganalisis pendaran warna hijau sebagai hasil ekspresi gen *gfp*. Gen *gfp* merupakan salah satu gen pelapor yang umum digunakan sebagai indikator keberhasilan penyisipan DNA asing. Gen ini mengkode protein *Green Fluorescent Protein* (GFP) (Remington, [8]) yang dapat dilihat keberadaannya sebagai pendaran warna hijau setelah ditembakkan sinar UV pada panjang gelombang eksitasi 450-490 nm. Gen pelapor ini banyak digunakan dalam proses rekayasa genetik tumbuhan maupun hewan. Kemampuan protein GFP dalam membentuk *chromophore* secara autokatalitik serta resisten terhadap *photobleaching* menyebabkan gen *gfp* dapat digunakan secara efektif untuk berbagai penelitian, seperti: memonitor ekspresi gen, *in situ localization* (Chalfie, Euskirchen, & Ward, [1]), biosensor, *physiological indicators* (Tsiens, [10]), dan studi interaksi protein (Kumar & Pal, [4]).

Dalam mekanisme pembentukan pendaran hijau dari GFP, sinar UV panjang gelombang eksitasi 450-490 nm dapat diserap dan diemisikan oleh molekul protein GFP pada panjang gelombang 460-510 nm sebagai warna hijau (Remington, 2011). Adanya pendaran hijau tersebut diharapkan hanya muncul sebagai penanda terekspresinya gen *gfp*. Namun demikian, pada sampel tumbuhan terkandung senyawa yang juga diketahui dapat menyerap dan mengemisikan sinar UV sebagai warna hijau tua pada panjang gelombang 470 – 525 nm. Senyawa tersebut adalah beberapa senyawa metabolit sekunder yang tergolong ke dalam kelompok terpen, alkaloid (*colchicine*) dan flavonoid (Roshchina, 2008). Adanya warna hijau selain hasil ekspresi gen *gfp* ini tentunya dapat menyebabkan hasil analisis *in situ localization* menjadi bias. Oleh karena itu, diperlukan teknik pengolahan citra digital yang mampu memilah warna hijau hasil ekspresi gen *gfp* dan warna hijau dari emisi senyawa metabolit tumbuhan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memisahkan objek hasil ekspresi gen *gfp* pada citra digital jagung transforman dengan warna hijau yang diemisikan oleh senyawa metabolit sekunder jagung menggunakan beberapa metode pengolahan citra digital yang dibahas secara rinci pada bagian metode penelitian.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan data primer berupa citra digital hasil pengamatan terhadap tanaman transforman yang kemudian citra digital tersebut diproses melalui beberapa langkah pengolahan citra digital. Data citra digital yang digunakan adalah sampel sayatan melintang akar jagung (*Zea mays*) transforman berisi plasmid pAPMAACO yang diamati di bawah mikroskop fluoresen pada panjang gelombang 450-490 nm. Plasmid pAPMAACO adalah konstruk plasmid pART dengan penyisipan promoter MaACO yang diisolasi dari pisang ambon (*Musa acuminata*). Promoter MaACO ditempatkan pada bagian hulu gen *gfp* menggantikan posisi promoter CaMV35S dalam meregulasi ekspresi gen *gfp*.

Definisi Citra

Citra dapat didefinisikan sebagai fungsi dua dimensi $f(x, y)$ di mana x dan y adalah koordinat bidang dan amplitudo dari f untuk setiap pasang koordinat (x, y) disebut dengan *intensity* atau *gray level* pada titik tersebut. Ketika x , y , dan nilai amplitudo f semuanya terbatas, diskrit, kita menyebut citra tersebut sebagai citra digital (Gonzalez & Woods, [2]). Untuk selanjutnya pemakaian kata citra pada paper ini merujuk kepada citra digital.

Citra Berwarna

Citra berwarna merupakan citra yang memiliki 3 buah kanal warna. Umumnya jenis citra berwarna terbentuk dari komponen merah/ *red* (R), hijau/ *green* (G), biru/ *blue* (B) yang dimodelkan ke dalam ruang warna RGB sehingga citra ini biasa dikenal sebagai citra RGB. Selain ruang warna RGB, terdapat pula ruang warna lainnya seperti CMYK (*Cyan, Magenta, Yellow, Black*), HSV (*Hue, Saturation, Value*), YCbCr(), dan Lab (L^*a^*b). (Hidayatulloh, [3])



Gambar 1. Contoh citra berwarna

Citra Grayscale

Citra *grayscale* disebut juga sebagai *8-bit image* karena untuk tiap nilai pikselnya memerlukan penyimpanan sebesar *8-bit*. Jenis citra ini hanya memiliki satu buah kanal sehingga yang ditampilkan adalah nilai intensitas. Nilai intensitas biasa dikenal sebagai derajat keabuan. Citra *grayscale* memiliki tempat penyimpanan yang lebih hemat karena memiliki satu kanal saja.

Ada beberapa cara untuk mengonversi citra berwarna RGB menjadi citra *grayscale*. Cara pertama adalah dengan merata-ratakan semua nilai piksel RGB, secara matematis dapat dituliskan sebagai berikut

$$y = \frac{1}{3}(R + G + B) \quad (1)$$

Cara lainnya adalah dengan menggunakan rumusan pada persamaan (2)

$$y = 0.299R + 0.587G + 0.144B \quad (2)$$

persamaan (2) ini menghasilkan citra konversi yang lebih baik dibandingkan dengan persamaan (1) (Hidayatulloh, [3]).



Gambar 2. Perbedaan citra berwarna dan citra *grayscale*

Citra Biner

Citra biner (*binary image*) atau dikenal dengan citra hitam putih (*black and white image*) merupakan citra yang hanya memiliki dua kemungkinan nilai untuk setiap pikselnya, yaitu 0 atau 1 sehingga citra jenis ini hanya membutuhkan *1-bit* untuk menyimpan nilai pada setiap pikselnya. Nilai 0 akan tampil sebagai warna hitam, sedangkan nilai 1 akan tampil sebagai warna putih. Citra biner sering digunakan untuk proses *masking* ataupun proses segmentasi citra.

Suatu citra biner bisa didapatkan dari citra *grayscale* melalui proses *thresholding* berdasarkan nilai ambang batas (*threshold*) yang ditentukan. Apabila nilai piksel pada citra *grayscale* lebih besar atau sama dengan nilai *threshold*, maka nilai piksel tersebut dikonversi menjadi 1. Sedangkan jika nilai piksel kurang dari nilai *threshold*, maka nilai piksel tersebut dikonversi menjadi 0. Secara matematis proses ini dituliskan pada persamaan (3).

$$y' = \begin{cases} 1, & y \geq \text{threshold} \\ 0, & y < \text{threshold} \end{cases} \quad (3)$$

(Hidayatulloh, [3]).

Jika sebuah citra berwarna akan diubah menjadi citra biner, maka citra tersebut harus diubah terlebih dahulu ke citra *grayscale* dan selanjutnya melalui proses *thresholding*.



Gambar 3. Perbedaan citra berwarna dan citra biner

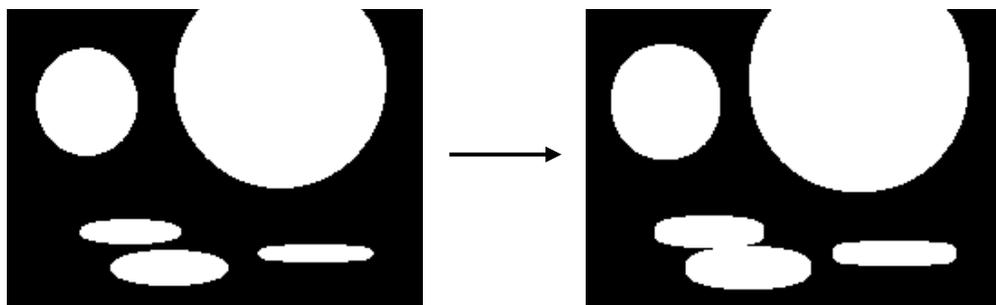
Operasi Morfologi

Morfologi berarti bentuk dan struktur suatu obyek atau susunan internal antar bagian-bagian sebuah obyek. Morfologi digital adalah suatu cara untuk menganalisis atau mendeskripsikan bentuk dari obyek digital (dalam citra digital) (Munir,[7]).

Operasi morfologi biasa dilakukan pada citra biner. Tujuan morfologi pada citra biner adalah untuk memperbaiki bentuk obyek agar dapat menghasilkan fitur-fitur yang lebih akurat ketika analisis dilakukan terhadap obyek. Ada berbagai cara untuk melakukan operasi morfologi, diantaranya adalah operasi dilasi dan operasi erosi.

Operasi Dilasi

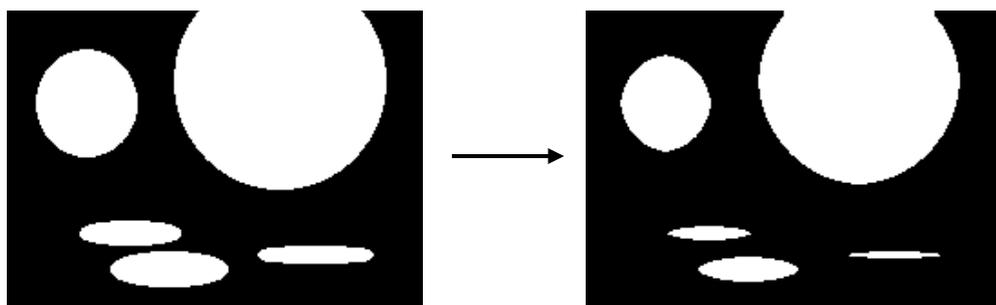
Operasi dilasi dilakukan untuk memperbesar ukuran segmen obyek dengan menambah lapisan di sekeliling obyek. Proses perubahan citra disesuaikan dengan *structuring element* pembanding. Jika titik acuan sesuai dengan ketentuan, maka lakukan operasi perubahan citra awal bersesuaian dengan *structuring element* (Munir,[7]).



Gambar 5. Gambar objek sebelum dan setelah operasi dilasi

Operasi Erosi

Operasi erosi adalah kebalikan dari operasi dilasi. Pada operasi ini, ukuran obyek diperkecil dengan mengikis sekeliling obyek. Operasi ini juga bekerja sesuai dengan *structure element* pembandingnya. Jika titik acuan sesuai dengan nilai intensitas obyek, maka lakukan operasi perubahan citra awal yang bersesuaian dengan *structuring element* (Munir,[7]).



Gambar 6. Gambar objek sebelum dan setelah operasi erosi

Color Image Filtering

Color image filtering merupakan proses pengurangan derau (*noise*) pada citra berwarna (Lukac, [5]).

Segmentasi Citra

Segmentasi mengacu pada proses partisi sebuah citra menjadi beberapa komponen atau objek (McAndrew, [6]). Segmentasi dianggap selesai apabila objek yang dikehendaki dari sebuah citra telah terisolasi (Gonzalez & Woods, [2]).

Pendeteksian tepi

Pendeteksian tepi adalah sebuah teknik yang digunakan untuk menemukan garis tepi dari suatu objek pada citra dengan cara mendeteksi perubahan tingkat kecerahan yang signifikan atau memiliki diskontinuitas (*discontinuity*). Adanya diskontinuitas lokal pada nilai piksel yang melebihi ambang batas (*threshold*) yang diberikan disebut sebagai tepi (*edge*) (McAndrew, [6]).



Gambar 7. Citra berwarna dan citra hasil pendeteksian tepinya

3. Hasil dan Pembahasan

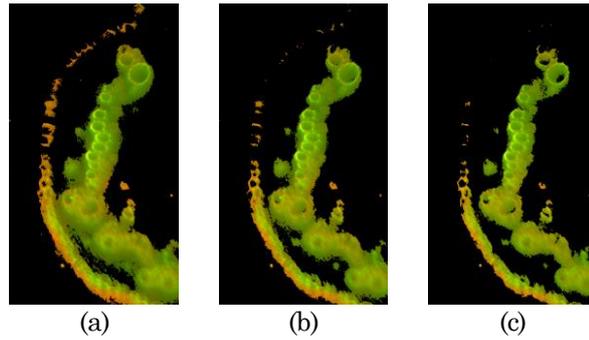
Hasil dari penelitian ini berupa citra hasil segmentasi yang digabungkan dengan citra asli sehingga terbentuk citra tanaman transforman yang sudah terdeteksi adanya keberadaan protein GFP. Pada eksperimen ini menggunakan citra asli berikut yang berukuran 395 x 708 piksel.



Gambar 8. Citra sampel sayatan melintang akar jagung (*Zea mays*) transforman

3.1 Color filtering

Pada eksperimen pertama ini dilakukan *color filtering*. Proses ini bertujuan untuk menampilkan piksel yang memiliki nilai piksel *green* $\geq u$. Berikut ini hasil citra olah dengan nilai $u = \{100, 110, 120\}$

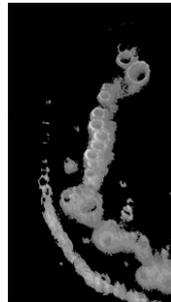


Gambar 9. Citra hasil *color filtering* (a) $u = 100$, (b) $u = 110$, dan (c) $u = 120$

Pada gambar 9 terlihat bahwa dengan menggunakan *color filtering* nilai piksel *green*, citra tanaman transforman akan tersegmentasi menjadi citra yang memuat warna hijau protein GFP. Namun pada citra protein GFP tersebut masih terdapat derau.

3.2 *Grayscale*

Proses ini bertujuan untuk mengubah citra pada Gambar 9 (c) menjadi citra dengan derajat keabuan. Berikut ini citra hasil yang diperoleh



Gambar 10. Citra hasil *grayscale*

3.3 *Thresholding*

Proses ini akan mengubah citra pada Gambar 10 menjadi citra biner. Berikut ini citra hasil yang diperoleh



Gambar 11. Citra hasil *thresholding*

3.4 *Morphology*

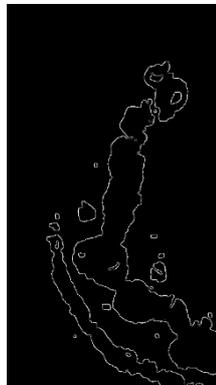
Proses ini bertujuan untuk menghilangkan derau pada citra Gambar 11 dengan melakukan proses operasi erosi sebanyak dua kali, kemudian akan dilakukan proses dilasi sebanyak dua kali. Berikut ini citra hasil yang diperoleh



Gambar 12. Citra hasil proses *morphology*

3.5 Deteksi kontur

Proses ini bertujuan untuk menampilkan kontur area protein GFP. Input pada proses ini adalah Gambar 12. Gambar tersebut diolah menggunakan *Canny edge detector* sehingga menghasilkan citra yang dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Citra hasil proses deteksi kontur

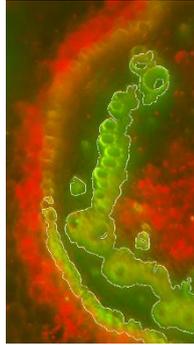
Pada Gambar 13 masih terdapat derau berupa kontur-kontur objek yang berukuran kecil. Derau tersebut akan dihilangkan dengan melakukan filter terhadap *width and height* objek kontur. Hasilnya diperoleh kontur yang memiliki *width and height* yang berukuran minimal 19x20 yang dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Citra hasil proses deteksi kontur setelah penghilangan derau kontur

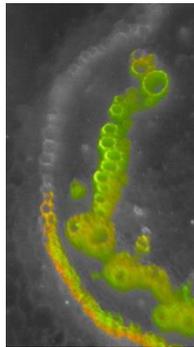
3.6 Hasil deteksi

Berikut ini terdapat dua buah citra hasil deteksi. Pada Gambar 15 diperoleh dengan menggabungkan citra asli Gambar 8 dengan Gambar 14.



Gambar 15. Citra hasil deteksi protein GFP terdapat dalam segmen garis putih

Pada Gambar 16 diperoleh dengan menggabungkan area yang berada di dalam kontur dengan citra *grayscale* dari gambar asli. Sehingga warna hijau dari protein GFP terlihat dengan jelas.



Gambar 16. Citra hasil deteksi protein GFP pada citra *grayscale*

4. Simpulan

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah citra objek hasil ekspresi gen *gfp* yang telah tersegmentasi pada sayatan melintang akar jagung transforman melalui pengolahan citra digital.

Daftar Pustaka

1. Chalfie, M., Tu, Y., Euskirchen, G., Ward, W. W., dan Prasher, D. C. 1994. Green Fluorescent Protein as A Marker for Gene Expression. *Science*. 263(5148): 802–805
2. Gonzalez, R.C. & Woods, R.E. 2002. *Digital Image Processing Second Edition*. New Jersey: Prentice Hall
3. Hidayatullah, Priyanto. 2017. *Pengolahan Citra Digital: Teori dan Aplikasi Nyata*. Bandung: Penerbit Informatika
4. Kumar, A., & Pal, D. 2016. Green Fluorescent Protein and Their Applications in Advance Research 1 2. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*. 01(1): 42–46
5. Lukac, R., Plataniotis, K.N., Venetsanopoulos, A.N.2008. *Color Image Filtering and Enhancement*. Boston:Springer
6. McAndrew, A.2004.*An Introduction to Digital Image Processing with Matlab Notes for SCM2511 Image Processing 1*. School of Computer Science and Mathematics Victoria University of Technology
7. Munir, R.2004.*Pengolahan Citra Digital dengan Pendekatan Algoritmik*. Bandung: Informatika
8. Remington, S. J. 2011. Green Fluorescent Protein: A perspective. *Protein Science*. 20(9): 1509–1519
9. Roshchina, V. V. 2008. *Fluorescing World of Plant Secreting Cells*. Boca Raton: CRC Press
10. Tsien, R. Y. 1998. The Green Fluorescent Protein. *Annual Review of Biochemistry*. 67(1): 509–544