

Segmentasi Citra Imunohistokimia Reseptor Estrogen Kanker Payudara menggunakan *Marker Watershed*

Ana Yulianti¹, Izzati Muhimmah², Indrayanti³

^{1,2}Jurusan Teknik Informatika Universitas Islam Indonesia

Jl. Kaliurang km 14 Yogyakarta 55510

Telp (0274) 895287 ext 122, fax (0274) 895007 ext 148

³Fakultas Kedokteran Universitas Muhamadiyah Yogyakarta

anadinata@gmail.com, izzati@uii.ac.id, indrayanti@yahoo.co.id

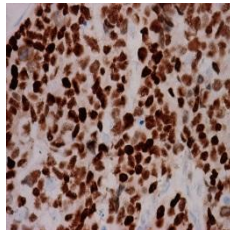
Abstract. Pengecatan sel payudara menggunakan pewarna Hematoxylin (H) akan memunculkan warna biru pada sel menunjukkan sel tumor dan Imunohistokimia (IHC) dengan pembangkit substrat warna Diaminobenzidine (DAB) yang akan memunculkan warna coklat pada sel menunjukkan sel DAB positif. Pemisahan warna pada citra IHC menggunakan metode *colour deconvolution* menghasilkan citra berdasarkan warna sel, yaitu citra IHC H warna biru dan citra IHC DAB positif warna coklat. Pada citra IHC H dan citra IHC DAB positif menunjukkan adanya sel-sel yang bertumpuk yang nantinya akan memberi kesulitan dalam penghitungan jumlah sel. Segmentasi *watershed* berdasarkan *marker* dengan menggunakan pemrosesan morfologi sangat membantu dalam mengidentifikasi objek yang akan dianalisis, sehingga memudahkan pemisahan objek yang saling bertumpuk. Hasil pengujian kredibilitas sistem memperoleh persentase nilai *sensitivity* sebesar 77.64 %, sedangkan persentase nilai *specivicity* adalah sebesar 4,71%.

Keywords: Citra IHC, pemrosesan morfologi, segmentasi marker watershed, marker, kanker payudara

1 PENDAHULUAN

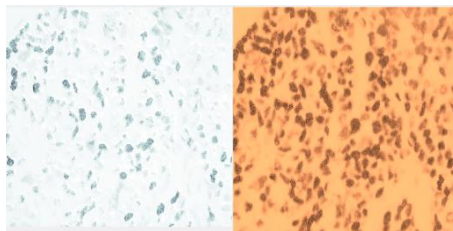
Kanker adalah segolongan penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (invasi) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastasis)⁸. Jenis kanker yang biasa menyerang wanita adalah kanker payudara. Kanker payudara adalah tumor (kanker) ganas yang bermula dari sel-sel payudara⁹. Salah satu pengobatan untuk kanker payudara adalah terapi hormonal yang termasuk dalam terapi tambahan / adjuvant Therapy. Terapi hormonal diberikan jika status reseptor hormon estrogen (ER) dan atau progesteron (PR) bernilai positif. Sebagian besar penderita kanker payudara di dunia mengandung hormon reseptor estrogen positif, dimana sekitar 60% sampai dengan 75% wanita penderita kanker payudara memiliki reseptor estrogen positif dan 65% diantaranya memiliki reseptor progesteron positif⁷. Tumor yang memiliki ER dan atau PR positif memiliki respon yang lebih baik terhadap terapi hormonal daripada tumor ER dan atau PR negatif¹⁰.

Metode standar yang biasa digunakan untuk pemeriksaan status reseptor hormon adalah Imunohistokimia¹¹. Imunohistokimia adalah proses untuk menetapkan lokasi dan jenis protein (antigen) tersebut di dalam sel-sel jaringan¹². Pengecatan sel payudara menggunakan pewarna Hematoxylin (H) akan memunculkan warna biru pada sel yang menunjukkan sel tumordan Imunohistokimia (IHC) dengan pembangkit substrat warna Diaminobenzidine (DAB) yang akan memunculkan warna coklat pada sel yang menunjukkan sel DAB positif seperti yang terlihat pada Gambar. 1. Akuisisi citra IHC reseptor estrogen kanker payudara menggunakan mikroskop.



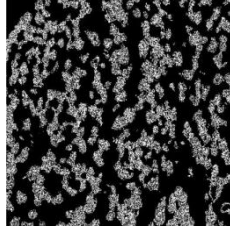
Gambar 1. Citra IHC Reseptor Estrogen Kanker Payudara

Pemisahan warna pada citra IHC menggunakan metode *colour deconvolution* menghasilkan citra berdasarkan warna sel, yaitu citra H warna biru yang merupakan semua sel tumor dan citra DAB warna coklat yang merupakan DAB positif. Citra H dan citra DAB positif menunjukkan adanya sel-sel yang bertumpuk yang nantinya akan memberi kesulitan dalam penghitungan jumlah sel, seperti yang terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Citra IHC H (kiri) dan citra IHC DAB positif (kanan)

Segmentasi *watershed* salah satu kegunaannya adalah memisahkan objek yang saling bertumpuk. Untuk itulah digunakan metode *watershed* yang merupakan penelitian dari Beucher dan Meyer pada tahun 1990, sehingga bisa ditentukan jumlah sel yang tercatat positif dan jumlah sel yang tercatat negatif. Metode *watershed* memiliki kelemahan yaitu terjadinya *oversegmentation*. *Oversegmentation* adalah banyaknya *watershed ridge line* yang terbentuk, seperti yang terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Citra IHC yang *oversegmentation*

Segmentasi *watershed* akan lebih bagus hasilnya jika bisa mengidentifikasi atau menandai objek yang diteliti (*foreground*) dengan latar belakangnya (*background*) atau yang biasanya disebut dengan marker. Segmentasi *watershed* menggunakan marker akan mengatasi *oversegmentation* pada citra. Marker yang digunakan untuk menandai objek yang dianalisis biasanya dinamakan dengan internal marker, sedangkan marker digunakan untuk menandai latar belakangnya biasanya dinamakan dengan eksternal marker².

2 TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi marker menggunakan pemrosesan morfologi untuk proses segmentasi *watershed*, sehingga bisa memisahkan objek yang saling bertumpuk.

3 DASAR TEORI

3.1. Deteksi Tepi Berbasis Gradien

Deteksi tepi bertujuan untuk memperoleh tepi objek, yaitu pertemuan antara bagian objek dan bagian latar belakangnya. Tepi objek dalam pengolahan citra ditandai oleh titik yang nilai keabuannya memiliki perbedaan yang cukup besar dengan titik yang ada disebelahnya, sehingga apabila dua buah objek atau lebih saling tumpang tindih akan meninggalkan jejak tepi apabila intensitasnya tidak sama sehingga dapat diketahui bahwa objek yang satu berada di depan objek yang lain atau sebaliknya. Tepi sebuah objek sangat berguna untuk memisahkan objek-objek yang saling bersinggungan sehingga bisa dianalisis secara individu⁵. Deteksi tepi dapat dilakukan dengan menghitung selisih antara dua buah titik yang bertetangga sehingga diperoleh besaran gradien citra. Salah satu operator yang menggunakan besaran gradien adalah operator Sobel. Operator Sobel ini menggunakan kernel ukuran 3x3 piksel untuk perhitungan gradien sehingga perkiraan gradien berada tepat di tengah jendela⁵.

3.2. Pemrosesan Morfologi Citra

Pemrosesan morfologi dilandasi oleh dua operasi dasar, yaitu operasi dilasi dan operasi erosi, kemudian dikembangkan menjadi operasi opening dan operasi closing yang dibentuk dari dua operasi dasar tersebut.

Operasi dilasi dipakai untuk mendapatkan efek pelebaran terhadap piksel yang bernilai 1 dan biasa dinotasikan sebagai $A \oplus B$ dan didefinisikan dengan persamaan sebagai berikut⁴:

$$A \oplus B = \{z | z = a + b, \text{ dengan } a \in A \text{ dan } b \in B\},$$

di mana hasil dilasi merupakan penjumlahan seluruh pasangan koordinat dari himpunan A dan himpunan B.

Operasi erosi mempunyai efek memperkecil struktur citra, dinotasikan sebagai $A \ominus B$ dan didefinisikan erosi dari citra A oleh B adalah himpunan seluruh piksel x sedemikian rupa sehingga B ditranslasi oleh x, yang berada dalam citra A, dan secara matematis dituliskan sebagai berikut⁵:

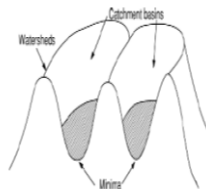
$$A \ominus B = \{x | (B)_x \subseteq A\}$$

3.3. Marker Watershed

Konsep yang digunakan *watershed* dalam penyelesaian masalah segmentasi citra adalah mengubah citra awal ke dalam citra lain dengan membagi skala keabuan atau citra berwarna dalam region yang berbeda dan merepresentasikan citra sebagai *relief topografi* dimana *catchmen basin* adalah objek atau region yang ingin dikenali^{1,3}, *Relief topografi* merupakan bentuk 3 dimensi dari suatu permukaan yang menunjuk posisi suatu objek pada koordinat secara horizontal dan secara vertikal (ketinggian). Jika citra *grayscale* dianggap sebagai permukaan topografi maka nilai piksel yang tinggi dianggap sebagai ketinggian (*peaks*) dan nilai piksel yang rendah dianggap sebagai lembah (*valey*). Berdasarkan anggapan topografi tersebut maka didapatkan tiga titik untuk menginterpretasikan metode *watershed*, yaitu³:

1. Titik yang merupakan daerah terendah
2. Titik yang merupakan tempat dimana jika setetes air dijatuhkan, maka air tersebut akan jatuh hingga ke sebuah posisi minimum tertentu
3. Titik yang merupakan tempat dimana jika air dijatuhkan, maka air tersebut mempunyai kemungkinan untuk jatuh ke salah satu posisi minimum (tidak pasti jatuh ke sebuah titik minimum, tetapi dapat jatuh ke titik minimum tertentu atau titik minimum yang lain).

Sekumpulan piksel yang mempunyai nilai intensitas minimum tertentu dan memenuhi kondisi (2) disebut sebagai lembah penampungan (*catchmen basin*), sedangkan piksel yang memenuhi kondisi (3) disebut sebagai garis *watershed*. Gambar 4. menunjukkan tiga titik yang diinterpretasikan menggunakan metode *watershed*.



Gambar 4. Gambaran metode *watershed*

Segmentasi *watershed* menggunakan *marker* akan mengatasi *oversegmentation* pada citra. *Marker* yang digunakan untuk menandai objek yang dianalisis biasanya dinamakan dengan internal *marker*, sedangkan *marker* digunakan untuk menandai latar belakangnya biasanya dinamakan dengan eksternal *marker*. Prosedur pemilihan *marker* menggunakan dua prinsip dasar², yaitu:

1. Melakukan tahap *preprocessing*
Oversegmentation biasanya terjadi karena banyaknya minima yang muncul. Salah satu cara untuk mengurangi minima adalah dengan menghaluskan citra yang biasanya menggunakan *smoothing filter*.
2. Menentukan kriteria yang diinginkan sebagai internal dan eksternal *marker*

4 METODOLOGI PENELITIAN

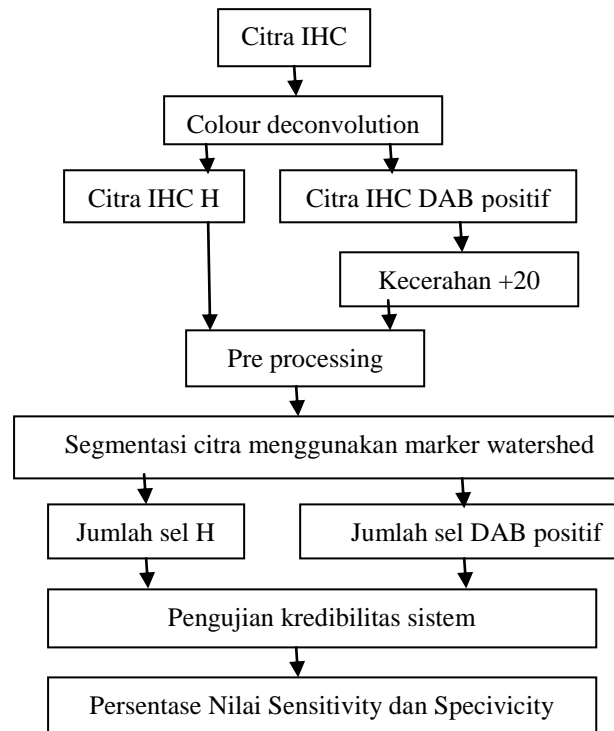
Citra IHC kanker payudara reseptor estrogen diperoleh dari Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Gedung Radio Putro Lantai IV Sekip Utara Yogyakarta. Citra IHC diambil menggunakan mikroskop Nikon Model Eclipse E600 W dengan perbesaran 400x oleh dokter spesialis Patologi Anatomi. Satu buah citra IHC yang diperoleh dengan luas 1280x960 piksel dan kedalaman warna 24 bit per piksel digunakan dalam penelitian ini.

Penelitian ini menggunakan dua tahapan segmentasi *marker watershed* pada citra IHC reseptor estrogen yang sudah dipisahkan warnanya terlebih dahulu menggunakan metode *color deconvolution* yang diperkenalkan oleh Ruifrok dan Johnston pada tahun 2001, sehingga menghasilkan citra 1 channel berdasarkan warnanya yaitu citra yang selnya berwarna biru (citra IHC H) dan citra yang selnya berwarna coklat (citra IHC DAB positif). Gambar 5. menunjukkan skema tahapan segmentasi *marker watershed* pada citra IHC.

Tahapan segmentasi *marker watershed* pada citra IHC H, adalah sebagai berikut:

- (1) Menghaluskan citra H terlebih dahulu sebelum tahapan selanjutnya dengan tujuan untuk mempermudah dalam proses segmentasi dengan menggunakan morfologi *opening and closing by restructure* dengan strel bentuk *disk* radius 7. Tahapan ini disebut juga *preprocessing*
- (2) Mencari gradien citra yang sudah dihaluskan (*preprocessing*) untuk proses segmentasi menggunakan operator sobel
- (3) Melakukan segmentasi *watershed* pada citra gradien dan hasilnya terjadi *oversegmentation*
- (4) Mengecilkan objek pada citra (1) dengan cara melebarkan area yang berwarna putih menggunakan operasi dilasi dilanjutkan dengan operasi closing untuk menghaluskan citra dengan elemen penstruktur berukuran 3x3 dan seluruhnya bernilai 1 sebelum menentukan internal marker
- (5) Menandai regional minima objek sebagai internal marker pada citra (4)
- (6) Menghapus regional minima yang areanya kecil dari 70 piksel pada citra (5)
- (7) Melakukan segmentasi *watershed* pada citra (1) sehingga terbentuk *watershed ridge line* sebagai eksternal marker

- (8) Menandai regional minima citra gradien sehingga regional minima hanya terjadi pada lokasi yang sudah ditandai, yaitu eksternal dan internal marker untuk selanjutnya melakukan segmentasi watershed sehingga sel-sel bisa dihitung secara individu.



Gambar 5. Skema tahapan segmentasi marker watershed pada citra IHC

Tahapan segmentasi marker watershed pada citra IHC DAB positif, adalah sebagai berikut:

- (1) Menambah kecerahan pada citra input DAB positif sebesar 20, hal ini karena ketidakseragaman tingkat kecerahan pada citra IHC kanker payudara sehingga pada saat proses segmentasi akan menyebabkan latar belakang citra input DAB positif akan ikut tersegmentasi. Dengan ditambahkan kecerahan, maka objek menjadi lebih jelas dan latar belakang menjadi lebih terang, sehingga pada saat segmentasi hanya objek saja yang muncul.
- (2) Tahapan ini mengikuti tahapan (1) sampai dengan tahapan (8) pada segmentasi marker watershed pada citra IHC H.

Sel H dan sel DAB positif dideteksi berdasarkan pusat sel dari setiap objek hasil *segmentasi marker watershed*, sehingga bisa dihitung jumlah sel H dan jumlah sel DAB positif. Hasil segmentasi dinyatakan tepat jika objek yang dihitung adalah objek yang mempunyai satu pusat sel. Tahap pengujian dilakukan untuk mengevaluasi sejauh mana kinerja sistem yang dibuat. Metode pengujian kredibilitas sistem mengguna-

kan metode *one feature: single decision threshold*. Metode ini membandingkan model sistem yang dibuat dengan hasil analisa dokter spesialis patologi anatomi untuk memperoleh empat nilai *True Positive (TP)*, *True Negatif (TN)*, *False Positive (FP)*, dan *False Negative (FN)* seperti yang terlihat pada Gambar 6. , sehingga diperoleh persentase nilai *sensitivity* dan *specivicity*⁶. *True Positive* menunjukkan jumlah nukleus yang teridentifikasi sebagai DAB positif baik berdasarkan verifikasi dokter maupun sistem. *True Negative* menunjukkan jumlah nukleus yang teridentifikasi sebagai DAB negatif baik berdasarkan verifikasi dokter maupun sistem. *False Positive* menunjukkan jumlah nukleus yang tidak teridentifikasi sebagai DAB positif berdasarkan verifikasi dokter, tetapi diidentifikasi sebagai DAB positif oleh sistem. *False Negative* menunjukkan jumlah nukleus yang teridentifikasi sebagai DAB positif berdasarkan verifikasi dokter, tetapi tidak diidentifikasi sebagai DAB positif oleh sistem. Persentase nilai *sensitivity* diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$Sensitivity = \frac{TP}{TP + FN}$$

Persentase nilai *specivicity* diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$Specivicity = \frac{TN}{TN + FP}$$

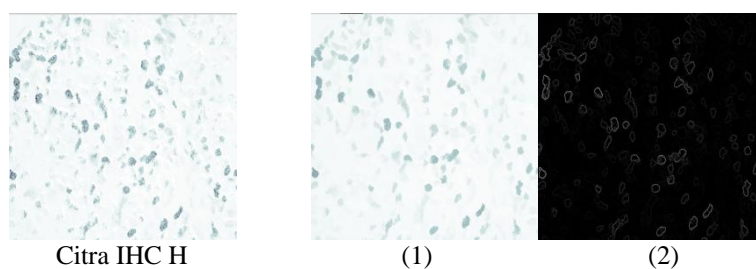
Pada penelitian ini hasil analisa citra IHC kanker payudara reseptor estrogen seorang dokter spesialis patologi anatomi akan digunakan sebagai *gold standar*.

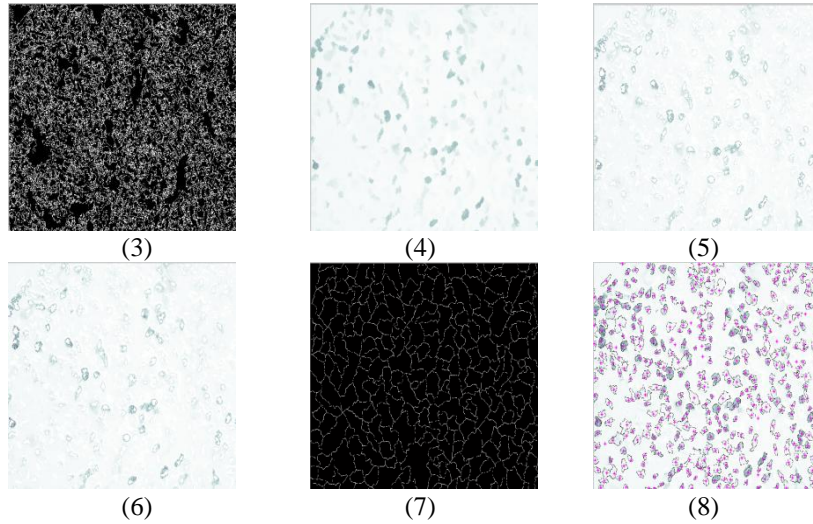
		Sistem	
		+	-
Gold Standar	+	TP	FN
	-	FP	TN

Gambar 6. *Single Decision Threshold*

5. HASIL DAN PEMBAHASAN

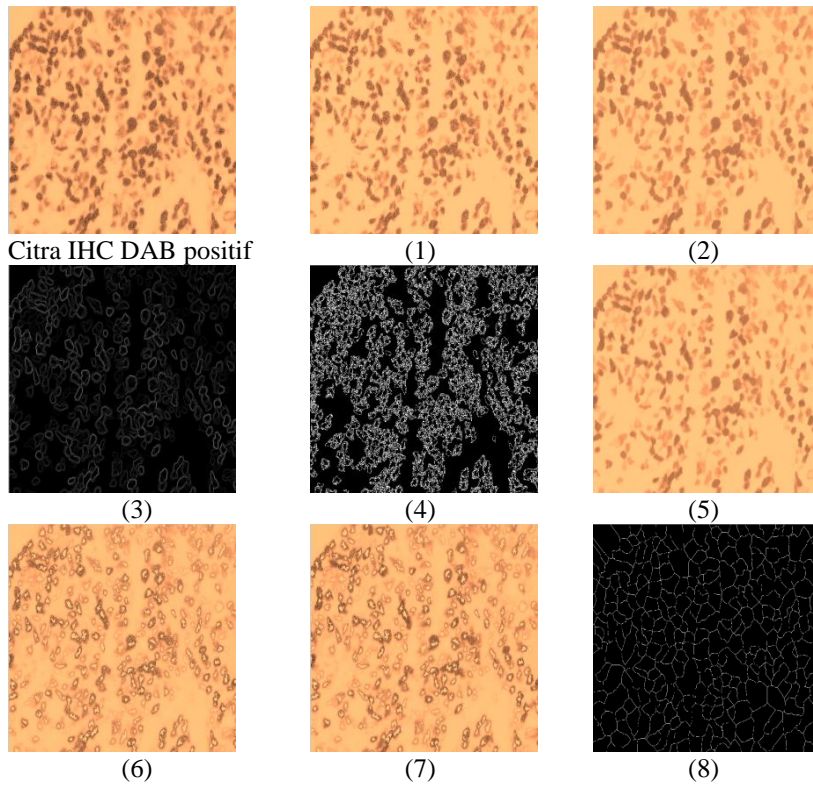
Hasil tahapan segmentasi *marker watershed* pada citra IHC H terlihat pada Gambar 7.



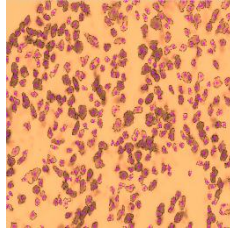


Gambar 7. Tahapan segmentasi marker watershed pada citra IHC H

Hasil tahapan segmentasi *marker watershed* pada citra IHC DAB positif terlihat pada Gambar 8.



Citra IHC DAB positif



(9)

Gambar 8. Tahapan segmentasi *marker watershed* pada citra IHC DAB positif

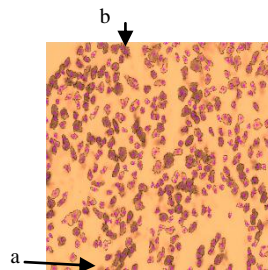
Terlihat pada Gambar 7.(1), (4) dan Gambar 8. (1), (5) bahwa pemrosesan morfologi sangat membantu dalam mengidentifikasi *marker*, sehingga mempermudah pada tahapan segmentasi *watershed*.

Hasil pengujian kredibilitas sistem memperoleh empat nilai *True Positive* (TP), *True Negatif* (TN), *False Positive* (FP), dan *False Negative* (FN) seperti yang terlihat pada Gambar 9.

		Sistem	
		+	-
Gold Standar	+	250	72
	-	123	13

Gambar 9. Nilai *True Positive* (TP), *True Negatif* (TN), *False Positive* (FP), dan *False Negative* (FN) hasil perbandingan *gold standar* dengan sistem

Persentase nilai *sensitivity* diperoleh sebesar 77.64 %, sehingga masih ada 22,7 % jumlah nukleus yang belum teridentifikasi dengan tepat. Hal ini dikarenakan ada sel yang diidentifikasi oleh sistem yang mempunyai lebih dari satu pusat sel, dan ada juga sel yang diidentifikasi oleh *gold standar* tapi tidak diidentifikasi oleh sistem, seperti yang terlihat pada Gambar 10. Sedangkan hasil persentase nilai *specivicity* diperoleh sebesar 9,56 %. Kecilnya persentase nilai *specivicity* dikarenakan ketidak seimbangan jumlah probabilitas data, seperti yang terlihat pada Gambar 9, di mana nilai TN yaitu 13 jauh lebih kecil dari pembagiannya yaitu TN (13) + FP (72).



Gambar 10. Hasil segmentasi yang tidak tepat. Panah (a) merupakan sel yang tidak dapat diidentifikasi oleh sistem. Panah (b) merupakan sel yang memiliki dua pusat sel.

5 KESIMPULAN DAN SARAN

Segmentasi *watershed* berdasarkan *marker* dengan menggunakan pemrosesan morfologi sangat membantu dalam mengidentifikasi (pengenalan) objek yang akan dianalisis, sehingga memudahkan pemisahan objek yang saling bertumpuk. Hasil segmentasi akan lebih baik jika memasukkan fitur bentuk dalam proses pengenalan objek dan menggunakan proses *pre processing* citra dengan metode yang lain, sehingga bisa meningkatkan persentase nilai *sensitivity* dan *specivicity* pada penelitian selanjutnya.

Penelitian ini merupakan tahapan sebelum dilakukan perhitungan persentase jumlah sel DAB positif dan jumlah sel DAB negatif pada citra IHC reseptor estrogen yang tujuannya adalah proses klasifikasi citra IHC reseptor estrogen untuk penentuan status reseptor hormon estrogen, sehingga penelitian ini bisa dilanjutkan pada tahap klasifikasi citra IHC reseptor estrogen kanker payudara.

Referensi

1. Prasetyo, E. (2011). Pengolahan Citra Digital dan Aplikasinya menggunakan Matlab. Yogyakarta: Andi Offset.
2. Gonzales, R. C., & Woods, R. E. (2008). Digital Image Processing Third Edition. New Jersey: Pearson Prentice Hall.
3. Gunawan, Halim, F., & Wijaya, E. (2011). *Perangkat Lunak Segmentasi Citra Dengan Metode Watershed*. JSIFO STMIK Mikroskil.
4. Kadir, A., & Susanto, A. (2013). Teori dan Aplikasi Pengolahan Citra. Yogyakarta: C.V. Andi Offset.
5. Sutoyo, T., Mulyanto, E., Suhartono, V., Nurhayati, O. D., & Wijanarto. (2009). Teori Pengolahan Citra Digital. Yogyakarta: Andi Offset.
6. Kusumadewi, S., Fauziah, A., Khoiruddin, A. A., Wahid, F., Setiawan, M. A., Rahayu, N. W., *et al.* (2009). Informatika Kesehatan. Yogyakarta: Graha Ilmu.
7. Burstein, J. H., Temin, S., Anderson, H., Buccholz, A. T., Davidson, E. N., *et al.* (2014). *Adjuvant Endocrine Therapy for Woman With Hormone Receptor-Positive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practical Guideline Focused Update*. Journal of Clinical Oncology.
8. Dewi, L. (2009). aku sembuh dari KANKER PAYUDARA. Yogyakarta: Tugu.
9. Pamungkas, Z. (2011). Deteksi Dini Kanker Payudara. Yogyakarta: Buku Biru.
10. Brashers, V. L. (2007). Aplikasi Klinis Patofisiologi Pemeriksaan & Manajemen Edisi 2. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
11. Payne, S., Bowen, R., Jones, J., & Wells, C. (2008). *Predictive Marker in Breast Cancer - The Present*. Histopathology 52, 82 – 90.
12. Hastuti, N., & W. Lubiz, H. M. (2011). *Manfaat Pemeriksaan Imuno(histo)kimia*. CDK 186/Vol. 38 no. 5.