

Prototype Color Deconvolution pada Citra Microscopic

Dadang Heksaputra¹, Dhina Puspasari Wijaya², Izzati Muhimmah³

Jurusan Teknik Informatika Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14 Yogyakarta 55510
Telp (0274) 895287 ext 122, fax (0274) 895007 ext 148
ddheksa@gmail.com¹, dhina.puspa@gmail.com²,
e.n.dirgahayu@gmail.com³

Abstract. *Locally Advanced Breast Cancer (LABC)* bagian terbesar (50-60%) dari penderita kanker payudara⁸. Menurut pakar *breast cancer* ditandai dengan perubahan warna kecoklatan pada data histopatologi yang diambil pada jaringan (sampel) yang diambil melalui operasi. Untuk mengetahui bagian ketidaknormalan yang saling tumpang tindih dari *breast cancer* maka dibutuhkan pemisahan bagian warna dari citra HER2. Metode dilakukan dengan *color deconvolution* dimana dengan menggunakan metode ini warna dipisahkan berdasarkan stain yang telah didefinisikan melalui larutan Hematoxylin, Eosin dan Diaminobenzine. Hasil pemisahan warna berdasarkan stain telah teruji dalam mendapatkan hasil keakuratan yang lebih baik.

Keywords: *breast cancer, HER2, color deconvolution*

1 Pendahuluan

Diungkapkan oleh Heru Purwanto⁸ bahwa *Locally Advanced Breast Cancer (LABC)* adalah kanker besar. LABC sampai saat ini masih menjadi bagian terbesar (50-60%) dari penderita kanker payudara yang datang di klinik payudara atau bedah tumor sebagian besar RS non pemerintah atau RS pemerintah di Indonesia.

Semua wanita yang didiagnosis dengan *breast cancer* telah melakukan tes guna mengetahui tingkat kegawatan sel HER2 dari *breast cancer*⁴. Citra HER2 dari hasil tes dapat berubah warna kecoklatan ketika dicat menggunakan larutan diaminobenzine dalam Immunohistochemical⁷.

Pada penelitian Ause² mengalami kendala untuk mengetahui persentase luas area sel yang positif kanker dikarenakan pecampuran warna yang begitu kompleks sehingga dibutuhkan pemisahan antara warna tersebut. Dengan ini kami mengusulkan untuk menanggulangi kendala pada penelitian tersebut. Penelitian ini akan dilanjutkan dengan menggunakan metode *color deconvolution* yang diadopsi dari Khan⁵ dimana citra akan di pisah-pisahkan ke dalam 3 *channel* RGB yang menampilkan pemisahan citra yang dicat dengan Hematoxylin, Eosin dan Diaminobenzine sehingga dapat diketahui persentase area sel yang positif kanker terhadap area sel yang negatif secara lebih akurat.

Penelitian ini bertujuan untuk memisahkan bagian warna dari citra HER2 agar mengetahui bagian ketidaknormalan yang saling tumpang tindih dari *breast cancer*. Fitur yang digunakan adalah metode Otsu⁹ dan Color Deconvolution¹.

2 Dasar Teori

2.1 Pemisahan Nilai RGB

Dalam proses *color deconvolution* layer red, green, blue merepresentasikan matrik optical density maka dibutuhkan pemecahan layer red, green, dan blue. Pengambilan warna pada masing-masing layer dilakukan dengan cara memecah per-piksel dari basis citra awal dengan menggunakan representasi dengan rumus fungsi intensitas yang diutarakan Kumar⁶ sebagai berikut:

$$I_{\text{RGB}} = (F_R, F_G, F_B) \quad (1)$$

Dimana $F_R(x,y)$ adalah intensitas dari piksel (x,y) dalam layer Red. $F_G(x,y)$ adalah intensitas dari piksel (x,y) dalam layer Green. $F_B(x,y)$ adalah intensitas dari piksel (x,y) dalam layer Blue. Intensitas dari masing-masing layer warna hanya bisa disimpan menggunakan delapan bits yang terindikasi mempunyai jumlah level 256⁶.

2.2 Color Deconvolution

Pada citra awal terdapat berbagai macam warna yang heterogen dan kompleks. Oleh karena itu dibutuhkan pemisah warna guna mengelompokkan suatu warna pada jenis yang sama. Ruifrok¹ menyebutkan bahwa *color deconvolution* mentransformasikan layer red, green, dan blue (Ψ) ke dalam ruang warna layer red, green, blue yang baru ($\hat{\Psi}$) menggunakan pewarnaan seleksi jaringan warna. Pada citra (Ψ) dan citra ($\hat{\Psi}$) memiliki tiga buah stain *color descriptor* yang digunakan untuk merepresentasikan optical density. Dalam paper Ruifrok¹ stain mempunyai karakteristik yang spesifik pada tiga layer RGB dimana masing-masing nilai RGB direpresentasikan ke dalam matriks vector optical density 3x1. Penerapan dari optical density disimbolkan P . Nilai P meliputi jenis larutan Hematoxylin, Eosin dan Diaminobenzine. Berikut stain untuk satu jenis larutan:

$$[P_1 \ P_2 \ P_3] \quad (1)$$

Nilai stain 3x3 yang telah diuraikan oleh Ruifrok untuk ketiga larutan Hematoxylin, Eosin, dan Diaminobenzine:

$$\begin{bmatrix} R & G & B \\ 0.18 & 0.20 & 0.08 \\ 0.01 & 0.13 & 0.01 \\ 0.10 & 0.21 & 0.29 \end{bmatrix} \begin{matrix} \text{Hematoxylin} \\ \text{Eosin} \\ \text{DAB} \end{matrix} \quad (2)$$

Normalisasi P dilakukan dengan membagi masing-masing vektor optical density (OD)¹.

$$\begin{aligned}
\hat{p}_{11} &= p_{11}/\sqrt{p_{11}^2 + p_{12}^2 + p_{13}^2} \\
\hat{p}_{21} &= p_{21}/\sqrt{p_{21}^2 + p_{22}^2 + p_{23}^2} \\
\hat{p}_{31} &= p_{31}/\sqrt{p_{31}^2 + p_{32}^2 + p_{33}^2} \\
\hat{p}_{12} &= p_{12}/\sqrt{p_{11}^2 + p_{12}^2 + p_{13}^2} \\
\hat{p}_{22} &= p_{22}/\sqrt{p_{21}^2 + p_{22}^2 + p_{23}^2} \\
\hat{p}_{32} &= p_{32}/\sqrt{p_{31}^2 + p_{32}^2 + p_{33}^2} \\
\hat{p}_{13} &= p_{13}/\sqrt{p_{11}^2 + p_{12}^2 + p_{13}^2} \\
\hat{p}_{23} &= p_{23}/\sqrt{p_{21}^2 + p_{22}^2 + p_{23}^2} \\
\hat{p}_{33} &= p_{33}/\sqrt{p_{31}^2 + p_{32}^2 + p_{33}^2}
\end{aligned}
\tag{3}$$

Hasil dalam matriks normalisasi OD, M:

$$\begin{matrix}
\hat{p}_{11} & \hat{p}_{12} & \hat{p}_{13} \\
\hat{p}_{21} & \hat{p}_{22} & \hat{p}_{23} \\
\hat{p}_{31} & \hat{p}_{32} & \hat{p}_{33}
\end{matrix}
\tag{4}$$

Jika C adalah vektor 3x1 untuk tiga stain pada piksel stain tertentu, kemudian vektor OD diketahui dengan piksel $y = CM$.

$$C = M^{-1}[y] \tag{5}$$

Persamaan ini berarti bahwa perkalian citra OD dengan invers matriks OD didefinisikan sebagai matriks color deconvolution (D). Hasil representasi Orthogonal dari pembentukan citra stain¹:

$$C = D[y] \tag{6}$$

Nilai stain yang digunakan menyatakan stain (nilai dari optical density untuk masing-masing layer). Pada larutan Hematoxylin, Eosin dan Diaminobenzine terdapat nilai stain disetiap layer RGB.

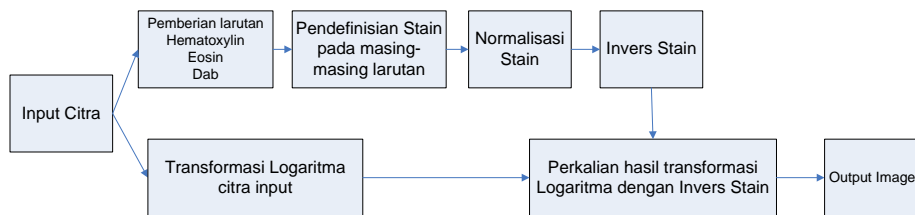
3 Metodologi Penelitian

Data citra hasil pemeriksaan sel kanker payudara HER2 didapat dari laboratorium Histologi Universitas Islam Indonesia. Sebelum citra tersebut diolah sesuai prosedur perlu untuk diutarakan seluruh kegiatan selama penelitian berlangsung.

Metodologi meliputi pengumpulan data, observasi pustaka, perancangan, implementasi, pengujian, dan kesimpulan. Pengumpulan data dilakukan kegiatan observasi dan pustaka. Observasi bertujuan untuk diskusi kepada dokter spesialis patologi dalam pengamatan bagian-bagian sel yang sudah terjangkit kanker. Kegiatan pustaka dilakukan guna memperoleh metode yang tepat dalam memisahkan warna dalam sel. Data yang dihasilkan berupa 50 citra *breast cancer* HER2 yang memiliki kombinasi warna saling tumpang tindih.

Perancangan metode *color deconvolution* dibutuhkan agar *heap memory* komputasi tidak memberi beban berat pada komputer. Perancangan diterapkan ke dalam logika program. Pada tahap implementasi dibutuhkan pengujian pada *logic* program untuk memastikan tidak terjadi kesalahan implementasi dalam menginterpretasikan ke dalam program.

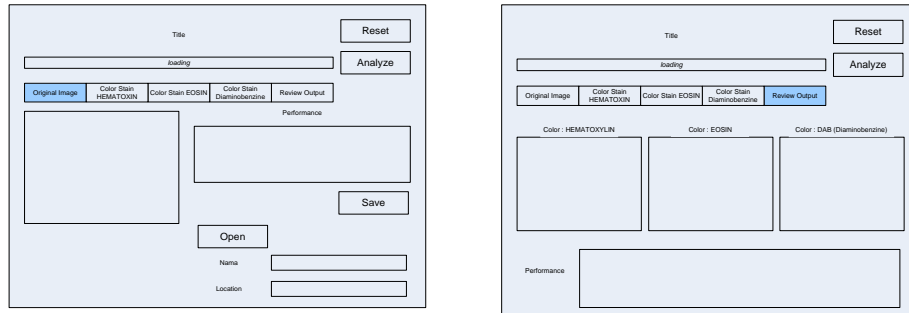
Pada tahap pengujian program diuji dengan dataset dan dapat memberikan kontribusi perbaikan area yang tersegmentasi. Tahapan kesimpulan guna merangkum kegiatan selama penelitian berlangsung. Kegiatan ini berisi rangkuman pembahasan serta pengujian di dalam implementasi sistem.



Gambar 1. Diagram perancangan *color deconvolution*

Berikut tahap perancangan *color deconvolution*:

1. Langkah pertama citra dimasukkan ke dalam sistem
 2. Dilakukan pendefinisian stain pada masing-masing larutan menggunakan persamaan (2)
 3. Stain pada masing-masing larutan dinormalisasi menggunakan persamaan (3). Hasil dari langkah normalisasi dengan stain diperoleh pada persamaan (4)
 4. Hasil normalisasi stain diinvers, sehingga didapatkan hasil invers dengan simbol M^{-1} dari persamaan (5)
 5. Citra masukan di normalisasi menggunakan pendekatan transformasi logaritma¹⁰
- Perolehan citra *output* didapat dari perkalian antara transformasi logaritma¹⁰ dengan matriks invers pada persamaan (6). Hasil citra *output* berupa tiga citra yang telah dipisahkan berdasarkan masing-masing stain dari Hematoxilin, Eosin, dan Diaminobenzine. Berikut adalah rancangan antar muka:

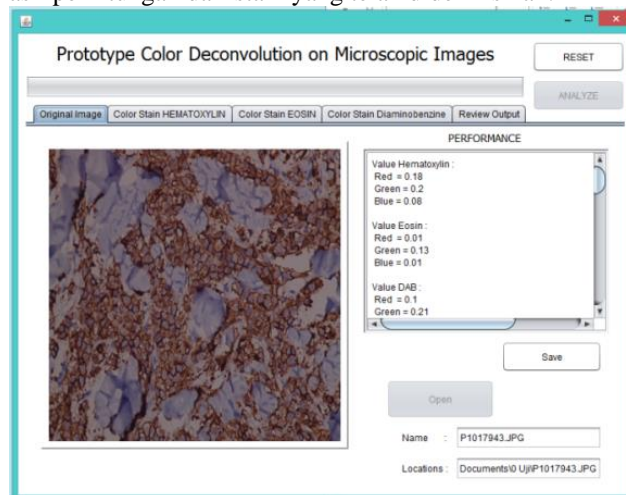


Gambar 2. Rancangan antarmuka

4 Hasil dan Pembahasan

Citra HER2 dari data histology mengandung tetesan larutan yaitu Diaminobenzine (coklat), Hematoxylin (biru) dan Eosin (magenta) yang dipisahkan dengan *color deconvolution*. Hematoxylin adalah larutan untuk menunjukkan adanya nucleus. Eosin memberikan warna magenta pada citra HER2. Diaminobenzine digunakan untuk pembangkit substrat warna.

Gambar 3 menunjukkan hasil implementasi dari perancangan antar muka untuk halaman *original image*. Pada halaman tersebut menampilkan informasi tentang citra *original* serta hasil perhitungan dari stain yang telah didefinisikan.

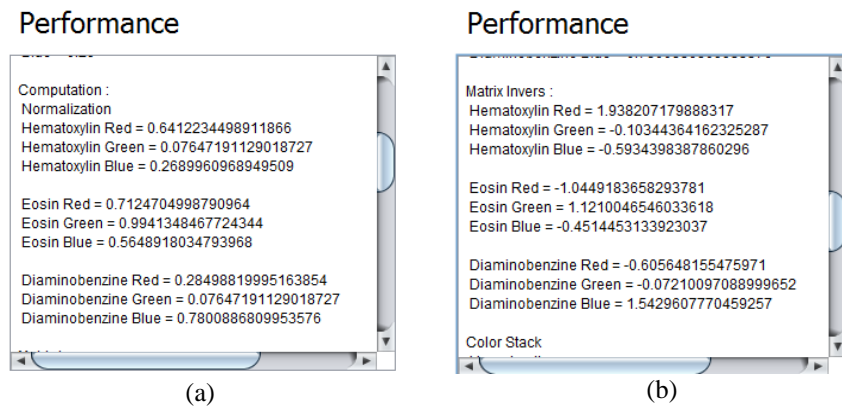


Gambar 3. Halaman citra masukan

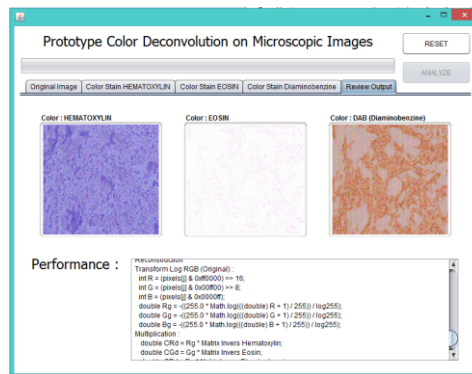
Stain didefinisikan dari konversi optical density pada masing-masing layer RGB. Optical density (OD) bagian dari nilai intensitas dari citra yang tidak langsung digunakan untuk pemisahan dan pembentukan masing-masing stain. Nilai di atas didefinisikan dalam jurnal ruifrok berjudul *Quantification of histochemical staining by*

color deconvolution yang digunakan sebagai konstanta untuk pendefinisian stain dari ketiga larutan¹.

Hasil dari normalisasi dan invers matriks stain ditunjukkan pada Gambar 4. Sedangkan untuk hasil output citra dari perkalian invers stain dan transformasi logaritma ditunjukkan pada Gambar 5 yang menghasilkan ketiga buah citra untuk masing-masing filter Hematoxylin, Eosin dan Diaminobenzine.



Gambar 4. (a) Hasil Normalisasi Stain. (b) Hasil Invers Stain.



Gambar 5. Halaman Hasil

5 Pengujian

Pengujian ini dilakukan bertujuan mengetahui luas area antara ketiga buah filter penggunaan stain Hematoxylin, Eosin, dan Diaminobenzine. Metode Otsu⁹ digunakan untuk mengelompokkan daerah yang tersegmentasi kemudian dilakukan pengujian luas area. Pengujian luas area bertujuan mengetahui adanya perbedaan daerah yang terbagi antara ketiga filter tersebut. Perbedaan luas area sesuai dengan stain masing-masing larutan. Berikut ini hasil dari pengujian luas area data set:

Tabel 1. Pengujian luas area *dataset*

No	Nama Citra	Larutan		
		Hematoxylin (pixel)	Eosin (pixel)	Diaminobenzine (pixel)
1	P1017930.JPG	7330309	24870	5332806
2	P1017931.JPG	7338494	31839	5480705
3	P1017932.JPG	7303462	170254	5333094
4	P1017933.JPG	7372544	19004	3682736
5	P1017934.JPG	7364513	33745	3844755
6	P1017935.JPG	7347156	63024	3756932
7	P1017936.JPG	7292915	34011	4070659
8	P1017937.JPG	7352074	19335	2614338
9	P1017938.JPG	4376943	66213	2606638
10	P1017939.JPG	4550906	307247	2513384
11	P1017940.JPG	4821845	103861	1747878
12	P1017941.JPG	4835767	222634	2290524
13	P1017942.JPG	4465839	136645	1889742
14	P1017943.JPG	6682591	312277	3069929
15	P1017944.JPG	7043412	159403	3038865
16	P1017945.JPG	6803862	300750	3337694
17	P1017946.JPG	7039431	238628	3426846
18	P1017947.JPG	7120674	232413	3335584
19	P1017968.JPG	6492030	50936	5139360
20	P1017969.JPG	6948627	58221	2930121
21	P1017970.JPG	7333985	28858	2377696
22	P1017971.JPG	6275992	408353	2965698
23	P1017998.JPG	4273736	298778	2917944
24	P1017999.JPG	5050071	246210	4372226
25	P1018000.JPG	4235210	415409	2534708
26	P1018001.JPG	4245156	358279	4343822
27	P1018002.JPG	4371102	312255	4280684
28	P1018003.JPG	6197549	121050	4243234
29	P1018004.JPG	6528415	152351	3896256
30	P1018005.JPG	4217134	335920	4458119
31	P1018006.JPG	5566059	202541	4666346
32	P1018064.JPG	7363015	22858	4888978
33	P1018065.JPG	7278407	118316	2885790
34	P1018066.JPG	7331837	81993	2582807
35	P1018067.JPG	7369915	17041	4464527
36	P1018068.JPG	5015654	537613	3021172
37	P1018069.JPG	6416459	427361	2613214
38	P1018070.JPG	6815480	293556	2475087
39	P1018071.JPG	6109821	415402	2683288

No	Nama Citra	Larutan		
		Hematoxylin (pixel)	Eosin (pixel)	Diaminobenzine (pixel)
40	P1018072.JPG	4865004	481658	2068460
41	P1018073.JPG	6172611	448661	4267523
42	P1018074.JPG	6494299	576042	4325425
43	P1018075.JPG	5822049	466686	3509975
44	P1018076.JPG	6246380	585155	3576580
45	P1018077.JPG	5193853	1242344	3103032
46	P1018078.JPG	7142511	257253	3523836
47	P1018079.JPG	6897178	260046	2834134
48	P1018080.JPG	7110107	269981	3309929
49	P1018081.JPG	7113591	337141	3674349
50	P1018082.JPG	7194499	217689	3331275

Dataset mempunyai kriteria ukuran citra yang sama yaitu 2352x3136 piksel. Jika citra berisi objek dengan berisi penuh maka hasil yang didapat 7375872 piksel, dengan demikian hasil pengujian ini dapat dibuktikan memperkecil area objek atau dapat memperbesarnya tergantung dari filter stain yang didefinisikan. Prototype ini dapat menjadi acuan pada langkah *processing* untuk mengetahui luas area dari objek yang ingin analisis mempunyai hasil akurat. Gambar 6 menunjukkan tahap pengujian luas area citra menggunakan Metode Otsu⁹. Luas area daerah yang tersegmentasi dapat menunjukkan tingkat kegawatan sel kanker payudara³. Berikut ini contoh citra dari hasil pengujian:



Gambar 6. Pengujian citra luas area

Luas = 2290524 pixel

6 Kesimpulan

Dari yang telah diuraikan dalam pembahasan maka didapatkan kesimpulan bahwa, dengan metode *color deconvolution* memisahkan bagian warna Hematoxylin, Eosin dan Diaminobenzine. Luas area dengan stain larutan Diaminobenzine untuk mengetahui bagian ketidaknormalan yang saling tumpang tindih dapat dipisahkan, sehingga daerah yang tersegmentasi merupakan daerah yang terjangkit kanker.

7 Pustaka

1. A. Ruifrok and D. Johnston. (2001). Quantification of histochemical staining by color deconvolution, *Anal.Quantitat. Cytol. Histol.*, vol. 23, pp. 291–299.
2. Ause labellapansa, Izzati Muhimmah, Indrayanti. (2013). Klasifikasi Citra Imunohistokimia Sel Kanker Payudara HER2 Skore 1+ dan 3+. Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed) IV, p. 24.
3. Eric M. Brey, Zahid.L, Carol.J, Mark.W, Lary.V, Duke.P, dan Charles.W. (2003). Automated Selection of DAB-labeled Tissue for Immunohistochemical Quantification. *The journal of histochemistry&cyto chemistry* Volume 51(5):575-584.
4. Johnston, Stephen. (2013). Macmillan Cancer Support. Diakses pada 3 Oktober 2015 dari <http://www.nhs.uk/ipgmedia/National/Macmillan%20Cancer%20Support/assets/HER2positivbreastcancerMCS6pages.pdf>.
5. Khan, M.A & Rajpoot, N. (2014). A Non Mapping Aproach to Stain Normalization in Digital Histopatology Images Using Image-Specific Color Deconvolution. *IEEE : T.*
6. Kumar. T & Verma. K. (2010). A THEORY Based on Coversion of RGB image to Gray image. *International Journal of Application(0975 - 8887)* Volume 7-No.2.
7. Ma W, Lozanoff S. (1998). A Full Color for A quantitative Assesment of Histochemical and Immunohistochemical Staining Patterns. *Biothech Histochem* 74:1-9.
8. Purwanto, Heru. (2011). Kanker Payudara Lanjut Lokal dan Kemoterapi Neoadjuvan Sebagai Upaya Peningkatan Respon. *MEDICINUS: Scientific Journal Of Pharmaceutial Development and Medical Application*, Vol. 24 No. 4. ISSN 1979-39.
9. Rafael. C. Gonzales. (1987). *Digital Image Procesing Addition* – Wesley Publishing Comapany, USA.
10. Steel, R.G.D. & Torrie, J.H. (1991). *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik* (Terjemahan: Bambang Sumantri). Jakarta: PT. Gramedia.