PENENTUAN ABNORMALITAS PERGERAKAN *SPERMATOZOA* MANUSIA BERBASIS REGRESI LINIER

Nama : Moch. Hatta
NRP : 2210205003
Pembimbing : Dr. I Ketut Eddy Purnama, ST., MT.
Co-Pembimbing : Dr. Adhi Dharma Wibawa, ST., MT.

ABSTRAK

Salah satu faktor penentu kualitas sperma adalah motilitas *spermatozoa*. Motilitas *spermatozoa* dapat dilakukan melalui uji mikroskopis sperma. Penentuan motilitas *spermatozoa* secara konvensional bergantung pada keberadaan ahli di mana penilaiannya bersifat subjektif. *Computer-Assisted Sperm Analysis* (CASA) sangat membantu memecahkan masalah ini. Umumnya CASA dan para peneliti di bidang ini menggunakan *phase contrast microscope* untuk mendapatkan *image* dengan kontras yang lebih tinggi. Namun dalam penelitian ini penentuan posisi dan gerakan *spermatozoa* pada video dilakukan menggunakan rekaman video yang berasal dari *bright field microscope* yang berkontras rendah dengan berbagai kekurangan lainnya. Dengan kombinasi beberapa tahapan yaitu *mean filter background subtraction*, pengaturan kontras dengan berpatokan pada Otsu *threshold*, proses *filtering* menggunakan *mathematical morphology* untuk menentukan posisi dari objek serta penghitungan *regresi linier* dan nilai *root mean square* (RMS).

Dari hasil percobaan yang dilakukan video data *spermatozoa* manusia, ternyata metode di atas didapat posisi pergerakan *spermatozoa* hasil penjejakkan dikenali bentuk lintasannya berdasarkan rata-rata jarak posisinya terhadap garis regresi linier, dengan *threshold RMS* sebesar 10 terdapat 10 *spermatozoa* progresif dan 4 *spermatozoa* non progresif. Metode yang digunakan berhasil menentukan 14 *spermatozoa* manusia, terdapat 71% progresif dan 29% non progresif. Menurut *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen* tahun 2010 dengan nilai 71% progresif berarti pergerakan sperma normal.

Kata kunci : *spermatozoa*, regresi linier, *root mean square*, *background subtraction*, *mathematical morphology*

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemeriksaan sperma merupakan salah satu elemen penting dalam penilaian fertilitas atau infertilitas. Pemeriksaan sperma ini bukan hanya diperuntukkan bagi pria yang dianggap mengalami infertilitas saja, tapi beberapa kasus pasca operasi yang melibatkan organ reproduksi pria, misalnya pengangkatan salah satu testis pada kasus kanker testis.

Tes infertilitas yang paling sering digunakan adalah *Spermiogram* (Tamboli dkk, 2003) menurut *World Health Organization (WHO)* prosedur test ini memiliki dua tahap:

1. Pengujian makroskopik yaitu analisis terhadap beberapa karakteristik fisik dari semen yaitu bau, kekentalan, dan *pH*.
2. Pengujian mikroskopik yaitu analisis beberapa parameter spermatozoa yaitu : konsentrasi (kepadatan), motilitas, dan morfologi (struktur dan bentuk).

Adapun parameter untuk sperma normal adalah:

1. Berdasarkan *pH*: semen harus bersifat agak basa 7,0 hingga 8,5.
2. Berdasarkan viskositas: semen harus mudah dituang.
3. Berdasarkan volume 2 s/d 5 cm³.
4. Cacah *spermatozoa* (*sperm count*). Angka yang normal untuk ini adalah 200 juta/cm³.
5. Kelincahan gerak (motilitas), uji ini menyatakan tingkat aktivitas sperma. Jika spermatozoa tidak bergerak, mereka tidak dapat sampai ke telur.
6. Morfologi, ini memberi informasi tentang bentuk spermatozoa.

Umumnya berbagai parameter tersebut di atas ditentukan secara subjektif oleh seorang ahli karena ketiadaan peralatan standar untuk menguji terkecuali *pH* dan volume. Parameter kelincahan (motilitas), cacah *spermatozoa* dan morfologi bergantung pada pendapat tenaga ahli yang dipengaruhi oleh keadaan tenaga ahli tersebut saat melakukan pengamatan, pengalaman tenaga ahli, dan kualitas alat yang dipakai, Untuk itu dibutuhkan prosedur standar yang dapat membantu

kinerja para ahli, salah satunya adalah menggunakan CASA (*Computer-Assisted Sperm Analysis*).

Sistem CASA melibatkan komponen yang presisi misalnya *phase contrast microscope*, di mana komponen tersebut cukup langka dan susah mendapatkannya. Sedangkan yang paling mudah diperoleh adalah *bright field* tetapi yang paling sulit (karena kontras yang sangat lemah. Maka penggunaan mikroskop jenis ini, dari jajaran harganya yang paling murah, memiliki tantangan untuk digunakan yang tentunya memiliki konsekuensi pada kompleksitas lebih tinggi dari segi *image processing*.

Maka dibutuhkan suatu sistem yang bisa mentoleransi penggunaan mikroskop yang berkualitas rendah, dengan hasil akhir yang bisa diterima. Sebagai perbandingan pada Gambar 1.1 diperlihatkan image cairan semen diambil dengan tiga jenis mikroskop, pada Gambar 1.1(a) adalah *image spermatozoa* yang dihasilkan dari *bright field microscope*, mikroskop jenis ini memiliki kualitas kontras yang rendah. (b) adalah *image spermatozoa* yang berasal dari *phase contrast microscope* yang merupakan standard CASA dengan kualitas yang tinggi. Sedangkan (c) adalah image yang diambil menggunakan *differential interference contrast*, yang memiliki kualitas kontras menengah.

Gambar 1.1. Perbandingan image cairan semen diambil dengan tiga jenis mikroskop: (a) *bright field*, (b) *phase contrast*, dan (c) *differential interference contrast*. (Melissa Rouge, 2003, <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/semeneval/motility.html>)

Dalam pengoperasian di lapangan kualitas *image* biasanya diperburuk dengan adanya noda pada lensa, variasi *brightness* yang tidak menentu, homogenitas *brightness* yang tidak merata di seluruh area, hingga gangguan death piksel pada video. Kesemuanya ini mempengaruhi terhadap seluruh *frame* video yang diambil dan pada kondisi lapangan yang berbeda-beda, menjadi sangat sulit dilakukan.

Identifikasi motilitas spermatozoa berdasarkan *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen* tahun 2010 terbagi menjadi:

1. motilitas progresif; dan
2. motilitas non progresif.

1.2 Perumusan Masalah

Dengan mengevaluasi pergerakan *spermatozoa* melalui mikroskop, maka deteksi motilitas sperma, yang merupakan parameter penting dalam menentukan kualitas *spermatozoa* dapat diketahui. Penggunaan komputer dalam bidang ini terbukti sangat membantu. Namun kebutuhan mikroskop berkualitas tinggi menyebabkan sistem ini kurang praktis digunakan, sehingga dibutuhkan suatu metode untuk bisa memungkinkan analisa gerakan *spermatozoa* dengan mikroskop berkontras rendah, dengan efisiensi komputasi yang tinggi.

1.3 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Deteksi motilitas hanya dilakukan terhadap *spermatozoa* manusia.
2. Pembesaran dari mikroskop sudah tertentu, karena sistem tidak bisa mengenali *spermatozoa* yang berukuran sangat kecil, misalnya kepala *spermatozoa* terlalu kecil.
3. Perekaman pergerakan *spermatozoa* menggunakan kaca objektif non cekung, sehingga gerakan *spermatozoa* diasumsikan sebagai gerakan 2 dimensi.
4. Penelitian dilakukan sebatas pada penjejakan gerakan *spermatozoa* yang difokuskan pada kemampuan mengidentifikasi pergerakan suatu *spermatozoa* dari *frame* ke *frame*, karena tidak adanya database video yang standar.
5. Penentuan gerakan *spermatozoa* secara individual dari awal kemunculannya

hingga akhir pada sekumpulan *spermatozoa*, membutuhkan adanya prediktor gerakan. Dengan demikian asumsi yang dibuat bahwa *spermatozoa* mana pada *frame t+1* adalah *spermatozoa* yang sama pada *frame t*.

1.4 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Untuk mengatasi berbagai permasalahan di atas, maka dirancang sistem untuk menentukan abnormalitas pergerakan *spermatozoa* manusia berbasis *regresi linier*. Sistem ini menggunakan peralatan mikroskop *bright field* dan sebuah kamera *Point Grey* berkecepatan tinggi yang dipasangkan pada posisi okuler dan lensa objektif dengan perbesaran 40 kali, dihubungkan dengan sebuah laptop sebagai pemroses video. Sistem ini dilengkapi kemampuan perangkat lunak untuk mendeteksi gerakan sperma. Penentuan gerak *spermatozoa* menggunakan sistem yang dibangun bermanfaat untuk membantu tenaga ahli dalam mengetahui kualitas sperma.

1.5 Kontribusi Penelitian

Penelitian ini mampu memberikan kontribusi analisis *spermatozoa* melalui penentuan abnormalitas pergerakan *spermatozoa* manusia berbasis regresi linier. Penentuan ini didasarkan pada prosentase motilitas sperma progresif. Sistem pengidentifikasian tersebut dapat membantu analisis sperma dan membantu kinerja tenaga ahli.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI

Identifikasi motilitas *spermatozoa* merupakan salah satu uji mikroskopik sperma yang digunakan untuk menentukan kualitas sperma. Kesuksesan pembuahan sel telur dipengaruhi oleh gerakan dan keaktifan *spermatozoa*. Pada umumnya pengamatan motilitas ini dilakukan oleh laboran dengan mengamati *spermatozoa* yang bergerak melalui ruang pandang mikroskop, pengamatan ini terbantu jika ada sistem pendukung terintegrasi antara mikroskop dilengkapi kamera sebagai perekam dan komputer pengolah data. Proses identifikasi motilitas *spermatozoa* dimulai dari pengolahan video hasil perekaman dilanjutkan dengan penjejakan *spermatozoa*, menghitung regresi linier lintasan sperma dan nilai *root mean square (RMS)*, serta diakhiri identifikasi *spermatozoa*.

2.1 Dasar Spermatologi

Semen merupakan hasil sekresi kelamin jantan secara normal yang diejakulasikan pada saat perkawinan. Semen terdiri dari dua bagian yaitu plasma seminalis dan *spermatozoa* atau sel kelamin jantan (Hardijanto dkk, 2010). Pada manusia volume semen yang diejakulasikan secara normal sekitar 2-6 ml dengan *pH* antara 7,2-7,6. Tabel 2.1 menyajikan komposisi cairan semen untuk tiap kali ejakulasi normal pada manusia.

Tabel 2.1 Kriteria variabel cairan semen pada ejakulasi normal manusia

Kriteria	Nilai normal
Volume	2-6 ml
Warna	Putih keabu-abuan
Bau	Seperti buah kastanye
Kekentalan relatif	0-5 mm
pH	7,2-7,6
Sel darah merah	Tidak ada
Sel darah putih	≤ 1 juta/ml
Penggumpalan	Tidak ada
Konsentrasi	≥ 20 juta/ml

lanjutan tabel 2.1

Kriteria	Nilai normal
Motilitas progresif	> 50%
Motilitas maju dan cepat	≥ 25%
Sperma hidup	≥ 75%

Sumber : WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 2010

Spermatozoa atau *sperm cell* merupakan sel haploid (n) yang dibentuk di dalam *tubulus seminiferus* dari gamet jantan melalui proses kompleks yang disebut *spermatogenesis* (Hayati, 2010). *Spermatozoa* tersusun oleh bagian-bagian kepala (*head*), leher (*connecting piece*) dan ekor (*tail*) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1. Bagian kepala terdiri dari inti dan akrosom yang dilindungi oleh membran sel, sedangkan bagian ekor dibedakan menjadi bagian utama (*middle piece*), bagian tengah (*principle piece*) dan bagian pangkal (*end piece*). Sperma manusia normal memiliki panjang antara 40 μm hingga 250 μm (Abbiramy dkk, 2010).

Gambar 2.1 Struktur *spermatozoa* manusia sebagaimana dikutip dari <http://www.proceptin.com/phc/sperm-cell.php>

Pada umumnya setiap penyimpangan morfologi dari struktur *spermatozoa* yang normal dipandang sebagai abnormal. Abnormalitas *spermatozoa* dapat diidentifikasi menjadi dua, yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer disebabkan karena kelainan *spermatogenesis* sejak berada di dalam tubuli seminiferi atau epitel. Sedangkan abnormalitas sekunder terjadi sesudah *spermatozoa* meninggalkan tubuli seminiferi, selama perjalanannya melalui epididymis, ejakulasi, manipulasi, pemanasan, pendinginan yang terlalu cepat, kontaminasi dengan air, urin atau antiseptika (Hardijanto dkk, 2010).

Gambar 2.2 menunjukkan skema dari beberapa bentuk abnormalitas pada *spermatozoa* manusia.

Gambar 2.2 Abnormalitas *spermatozoa* manusia
(Sumber: WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 2010)

Abnormalitas primer meliputi kepala terlampau besar (*macrocephalic*), kepala terlampau kecil (*microcephalic*), kepala pendek melebar, pipih memanjang, piriformis, kepala rangkap, ekor berganda, bagian melipat, membengkok, membesar, bertaut abaxial pada pangkal kepala, ekor melingkar, putus, terbelah. Abnormalitas sekunder termasuk ekor yang putus, kepala tanpa ekor, bagian tengah yang melipat, adanya butiran protoplasma proksimal atau distal dan akrosom terlepas. Identifikasi tersebut tidak mutlak dan tidak mempunyai batas yang jelas, karena *spermatozoa* tanpa ekor dapat pula disebabkan oleh gangguan patologik, aplikasi panas dan dingin pada testis atau defisiensi makanan dan beberapa abnormalitas *spermatozoa* yang bersifat genetik (Hardijanto dkk, 2010).

Cairan semen yang terlalu kental mengakibatkan sel sperma sulit bergerak. Pembuahan pun jadi sulit karena sel sperma tak berhasil mencapai sel telur. Pada

kasus normal, saat ejakulasi, cairan semen dalam bentuk yang kental akan mencair (liquifaksi) setelah 15-60 menit.

Dalam cairan semen inilah jumlah *spermatozoa* merupakan penentu keberhasilan memperoleh keturunan, dengan jumlah *spermatozoa* normal sekitar 20 juta/ml. Jika ditemukan kasus *spermatozoa* yang kurang disebut *oligozoospermia*, atau bahkan jika tak ditemukan sel sperma sama sekali disebut *azoospermia*. Fertilisasi terjadi karena adanya pertemuan antara *spermatozoa* dan *oosit*. Keberhasilan *spermatozoa* dalam fertilisasi dipengaruhi juga oleh motilitasnya. Motilitas ini diperlukan pada saat *spermatozoa* bergerak dalam saluran reproduksi wanita dan menembus dinding zona pelusia telur dalam *ampula tuba falopii*. Jumlah sel sperma yang cukup, jika tak dibarengi motilitas yang normal, membuat sel sperma tak akan mencapai sel telur. Sebaliknya, kendati jumlahnya sedikit namun motilitasnya cepat, bisa mencapai sel telur.

2.2 Mikroskop Optik

Mikroskop Optik adalah mikroskop yang menggunakan cahaya yang bisa dilihat mata sebagai sumber cahaya. Mikroskop optik yang tergolong paling sederhana adalah *bright field mikroskop*. Sedangkan mikroskop optik yang khusus dibuat untuk meningkatkan kontras dan memiliki kontras yang paling tinggi adalah *phase contrast microscope*.

2.2.1 Bright field microscope

Bright field microscope bekerja dengan menyinari *specimen* dengan cahaya yang berasal dari bawah *specimen*. Objek pada *specimen* kemudian diperbesar oleh dua buah lensa berturut-turut yaitu *objective lens* dan *eyepiece lens*, sehingga total pembesaran yang dihasilkan adalah sebesar perkalian dari pembesaran kedua lensa tersebut. Prinsip kerja ini dapat dilihat pada Gambar 2.3. Pada Gambar 2.3 terdapat beberapa lensa tambahan dengan fungsi sebagai berikut :

- (a) *Tube lens*, berfungsi untuk meneruskan cahaya parallel yang berasal dari *objective lens*, dan untuk memfokuskan *image* pada level diafragma dari *eyepiece lens*.

(b) Pada irisan mikroskop terdapat *condenser lens* yang sebenarnya bukan komponen utama, berfungsi sebagai koreksi optik.

Gambar 2.3 *Bright field microscope*: (a) Prinsip kerja *bright field microscope*, (b) Irisan *bright field microscope*.
(Mortimer Abramowitz (2003), "Microscope basic and beyond", revised edition 2003, Fellow New York Microscopical Society, New York)

Distorsi yang umum terjadi pada mikroskop adalah *chromatic aberration* dan *spherical aberration* yang cenderung menyebabkan objek yang diamati tidak bisa terfokus dengan baik. Semakin tinggi kualitas optik, koreksi atas kedua distorsi ini semakin baik sehingga *image* menjadi semakin jelas. Dengan *bright field illumination*, kontras *image* dari *bright field microscope* berasal dari penyerapan cahaya dari *specimen*. Mikroskop jenis ini memiliki kelemahan pada kontras yang rendah sehingga umumnya dibutuhkan pewarna khusus yang dicampurkan pada *specimen* agar objek yang diamati terlihat dengan jelas.

2.2.2 *Phase contrast microscope*

Beberapa jenis mikroskop optik telah dibuat untuk mengatasi kelemahan *bright field microscope* dalam hal kontras yang rendah, di antaranya adalah *differential interference contrast*, *Hoffman modulation contrast microscope*, dan yang terbaik adalah *phase contrast microscope*. Prinsip *phase contrast*

microscopy ditemukan oleh Frits Zernike pada 1934, dan pada tahun 1953 memenangkan penghargaan Nobel oleh karena penemuannya ini.

Gambar 2.4 *Phase contrast microscope* (<http://www.microscopyu.com/articles/phasecontrast/phasemicroscopy.html>)

Prinsip kerja *phase contrast microscope* memanfaatkan fakta bahwa gelombang cahaya yang melalui bagian transparan dari *specimen* merambat lebih lambat dibandingkan dengan cahaya bebas, sehingga terjadi pergeseran fase. Pergeseran fase ini tidak terlihat oleh mata manusia. Namun perbedaan fase ini dapat ditingkatkan menjadi setengah panjang gelombang dengan menggunakan *transparent phase-plate* dalam mikroskop sehingga mengakibatkan terjadinya perbedaan *brightness*. Hal ini menyebabkan objek yang transparan menjadi jelas terlihat. Gambar 2.4 memperlihatkan komponen utama *phase contrast microscope*, terlihat bahwa ada penambahan *transparent phase plate* yang berfungsi untuk meningkatkan pergeseran fase menjadi setengah panjang gelombang.

Phase contrast microscope umum digunakan untuk mengamati objek transparan yang tidak berwarna karena memiliki kontras yang jauh lebih tinggi. Gambar 2.5 memperlihatkan perbandingan sel hidup dilihat dengan *bright field microscope* dan *phase contrast microscope*.

(a) (b)
Gambar 2.5 Perbandingan kontras *image* sel hidup dari dua jenis mikroskop :
(a) *bright field microscope* , (b) *phase contrast microscope*
(<http://www.microscopyu.com/articles/phasecontrast/phasemicroscopy.html>)

2.3 Time-Average Background Image

Metode sederhana untuk mendapatkan *background* dengan cara rekonstruksi dari serangkaian gambar bergerak dapat dilakukan dengan menggunakan TABI (*time-averaged background image*). Metode ini sudah banyak dipakai oleh peneliti sebelumnya. Metode ini akan menghasilkan gambar *background* yang merupakan pendekatan dengan cara mendapatkan rata-rata nilai piksel gambar berdasarkan serangkaian *frame* dari serangkaian gambar.

Misalkan $(I_1, I_2, \dots, I_m)$ merupakan serangkaian gambar bergerak, dipilih sejumlah *frame* dengan jumlah *n frame* dari total *m frame* dan disimbolkan dengan $(f_1, f_2, f_3, \dots, f_n)$. $f_i(a, b)$ merepresentasikan nilai piksel dari *frame* ke *i* dengan $i = 1, 2, \dots, n$. Maka dapat diperoleh nilai rata-rata tiap-tiap piksel dengan rumusan pada persamaan (2.1).

$$\bar{F}(a, b) = \frac{\sum_{i=1}^n f_i(a, b)}{n} \quad (2.1)$$

dengan :

$\bar{F}(a, b)$ = nilai rata-rata tiap piksel

$f_i(a, b)$ = nilai piksel dari *frame* ke *i*

(a, b) = koordinat titik, *a* sebagai komponen mendatar dan *b* sebagai komponen tegak

n = jumlah data

i = 1, 2, 3, ... *n*

2.4 Mean Filter

Hasil yang diperoleh dari proses TABI, kemudian dilanjutkan proses menghitung selisih nilai piksel antara hasil perhitungan $\overline{F}(a,b)$ dari persamaan 2.1 dengan $f_i(a, b)$ dengan $i = 1, 2, \dots n$, akan didapat nilai selisih piksel $D_i(a,b)$ dengan rumus persamaan (2.2).

$$D_i(a,b) = \left| \overline{F}(a,b) - f_i(a,b) \right| \quad (2.2)$$

dengan :

$D_i(a,b)$ = nilai selisih tiap piksel

2.5 Citra Biner (*Binary Image*)

Gambar digital adalah sebuah *array* angka atau intensitas citra yang tersampling (Alan Bovik, 2009). Setiap tingkat keabuan terkuantisasi satu dari himpunan berhingga yang direpresentasikan dengan bit. Dalam citra biner (*binary image*) hanya terdapat satu bit untuk setiap piksel yang mengimplikasikan dua kemungkinan nilai tingkat keabuan yaitu 0 dan 1. Dua nilai ini biasanya diinterpretasikan sebagai *Boolean*, dimana setiap piksel bernilai *true* atau *false*. Nilai ini mengindikasikan keberadaan suatu properti citra yang terhubung dengan tingkat keabuan, citra dengan ukuran yang sama dimana ‘1’ pada suatu koordinat mengindikasikan adanya properti pada tingkat keabuan citra pada koordinat tersebut. Sedangkan ‘0’ pada suatu koordinat mengindikasikan tidak adanya properti pada tingkat keabuan citra pada koordinat tersebut. Properti citra ini merupakan tingkat kecerahan (*brightness*) intensitas tinggi atau rendah. Biasanya, ditampilkan menggunakan dua warna ekstrim yaitu hitam dan putih yang direpresentasikan dengan 0 dan 255 pada lingkungan *grayscale* (Alan Bovik, 2009).

Nilai *gray level* 0 secara umum menggunakan ‘1’ untuk merepresentasikan ‘hitam’, sedangkan nilai *gray level* 255 secara umum menggunakan ‘0’ untuk merepresentasikan ‘putih’. Citra biner (*binary image*) dapat diperoleh dengan berbagai cara. Umumnya dibentuk dari tingkat keabuan citra untuk mempermudah pemrosesan. Akan tetapi, beberapa jenis sensor dapat secara langsung menghasilkan citra biner (*binary image*).

2.6 Metode Otsu

Thresholding citra merupakan suatu teknik yang banyak digunakan untuk segmentasi, yaitu membagi citra *gray level* ke segmen yang sesuai untuk beberapa kelas berdasarkan nilai *gray level*. Pendekatan *thresholding* kebanyakan diusulkan untuk dua kelas, dan didasarkan pada histogram *gray level* dari citra. Dua dari tujuh pendekatan yang paling populer adalah metode Otsu (Otsu, 1979) dan *Minimum Error Thresholding / MET* (Kittler dan Illingworth, 1986). Seperti yang telah disurvei (Han Si-qi, 2002), tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan di antara dua metode tersebut.

Dalam penelitian ini *thresholding* tidak digunakan untuk segmentasi citra sebagai tujuan akhir, tetapi sebagai titik acuan dalam memaksimalkan kontras untuk perbedaan *background* dan *foreground* sebesar-besarnya. Maka pemilihan di antara kedua metode tersebut tidak berdampak penting.

Threshold membagi area ke dalam dua kelas sebagai berikut :

$$g(a,b) = \begin{cases} 0 & , f(a,b) < T \\ 1 & , f(a,b) \geq T \end{cases} \quad (2.4)$$

dengan :

$g(a,b)$ = nilai piksel citra hasil *thresholding*, yang berisi 0 atau 1
 T = nilai *threshold*

Tujuan dari metode Otsu adalah untuk menemukan titik *threshold* yang membagi histogram citra *gray level* ke dalam dua daerah yang berbeda secara otomatis, di mana titik yang dipilih adalah sedemikian sehingga *inter-class variance* adalah sebesar mungkin. Tujuan tersebut dicapai dengan meminimalkan bobot *within-class variance*, yang sebenarnya adalah sama dengan memaksimalkan *inter-class variance*.

Bobot dari *within-class variance* adalah :

$$\sigma_w^2(t) = q_1(t)\sigma_1^2(t) + q_2(t)\sigma_2^2(t) \quad (2.5)$$

dengan :

- $\sigma_w^2(t)$ = total *within-class variance*
- $\sigma_1^2(t)$ = total *within-class variance* dari kelas pertama
- $\sigma_2^2(t)$ = total *within-class variance* dari kelas kedua
- $q_1(t)$ = *class probabilities* dari kelas pertama
- $q_2(t)$ = *class probabilities* dari kelas kedua
- t = nilai *gray level* yaitu nilai *threshold*

Class probabilities dari kelas pertama dan kedua adalah (di mana i mewakili jumlah kemunculan piksel untuk *gray-level* tertentu, sedangkan t adalah nilai *gray level*) :

$$q_1(t) = \sum_{j=1}^t P(j) \quad (2.6)$$

$$q_2(t) = \sum_{j=t+1}^l P(j) \quad (2.7)$$

dengan :

- $P(j)$ = kemungkinan kemunculan nilai *gray level* tertentu
- j = nilai *gray level*
- t = nilai *threshold*
- l = batas akhir kelas kedua

Nilai rata-rata dari masing-masing kelas adalah :

$$\mu_1(t) = \sum_{j=1}^t \frac{jP(j)}{q_1(t)} \quad (2.8)$$

$$\mu_2(t) = \sum_{j=t+1}^l \frac{jP(j)}{q_2(t)} \quad (2.9)$$

dengan :

- $\mu_1(t)$ = nilai rata-rata kelas pertama
- $\mu_2(t)$ = nilai rata-rata kelas kedua

Within-class variance dari masing-masing kelas tersebut adalah :

$$\sigma_1^2(t) = \sum_{j=1}^t [j - \mu_1(t)]^2 \frac{P(j)}{q_1(t)} \quad (2.10)$$

$$\sigma_2^2(t) = \sum_{j=t+1}^l [j - \mu_2(t)]^2 \frac{P(j)}{q_2(t)} \quad (2.11)$$

Jika dihitung semua nilai $\sigma_1^2(t)$ dan $\sigma_2^2(t)$ pada citra *gray scale* maka akan diperoleh nilai *within-class variance* minimum. Nilai t yang membuat $\sigma_1^2(t)$ dan $\sigma_2^2(t)$ menjadi minimum adalah nilai *threshold* yang dicari.

Namun proses komputasi dapat dihemat dengan memanfaatkan fakta bahwa total variance pada suatu *image* adalah selalu konstan, tidak bergantung pada nilai *threshold*. Sehingga untuk sebarang *threshold* t , total variance adalah jumlah dari *within-class variance* dan *inter-class variance* :

$$\sigma^2 = \frac{\sigma_w^2(t)}{\text{within-class variance}} + \frac{q_1(t)[1 - q_1(t)][\mu_1(t) - \mu_2(t)]^2}{\text{inter-class variance} = \sigma_B^2(t)} \quad (2.12)$$

Dari persamaan di atas terlihat bahwa meminimalkan *within class variance* ($\sigma_w^2(t)$) adalah sama dengan memaksimalkan *interclass variance* ($\sigma_B^2(t)$). Nilai dari $\sigma_B^2(t)$ dapat dihitung secara rekursif dengan sekali jalan mulai dari nilai t terendah hingga tertinggi (0 hingga 255 untuk *gray scale* 8 bit).

2.7 Template matching

Template matching adalah proses menemukan lokasi sebuah *subimage*, yang disebut *template*, di dalam *image*. *Template* biasanya mewakili fitur *boundary* dari objek. *Template matching* adalah proses membandingkan *template* yang ada dengan jendela dengan ukuran yang sama dalam *image* dan mengidentifikasi jendela yang paling mirip dengan *template*. Jika *template* dan representasi *image* berisi struktur binary misalnya tepi objek (*contour boundary*), jarak geometris adalah parameter yang biasanya dipilih untuk *template matching*.

Proses pencocokan *boundary* dikenal sebagai *chamfer matching* dan pertama kali diusulkan oleh Barrow et al. (1977) dalam pencocokan foto udara. *Chamfer matching* adalah teknik yang menggunakan jarak rata-rata antara dua

struktur binary sebagai ukuran kesamaan. Untuk menentukan kesamaan antara *template* dan suatu *window* yang dipilih dalam *image*, *window* dan *template* ditumpuk sehingga saling tumpang tindih. Untuk setiap titik *boundary* dalam *window*, dicari titik paling dekat pada *template* dan dihitung rata-rata dari jarak antara titik-titik yang sesuai yang digunakan sebagai ukuran kesamaan.

$$\Delta_{cham}^{(\Gamma, \varepsilon)} = \frac{1}{|\Gamma|} \sum_{\rho \in \Gamma} \min_{\varphi \in \Gamma} |\rho - \varphi| \quad (2.13)$$

dengan : $|\Gamma|$ adalah jumlah titik *edge* dari *template* T
 ε adalah *edge map* dari *image*

Melalui *Distance Transform*, diperoleh titik-titik dengan jarak terdekat dari *edge* map E, sehingga komputasi menjadi lebih sederhana :

$$\Delta_{cham}^{(\Gamma, \varepsilon)} = \frac{1}{|\Gamma|} \sum_{\rho \in \Gamma} \Phi_{\Gamma, \varepsilon}(\rho) \quad (2.14)$$

Kesamaan yang terdekat adalah posisi dimana jarak rata-rata antara *template* dan *contour* dari *image* adalah minimum. Semakin kecil rata-rata yang diperoleh, semakin mirip *template* dan *window*. Rata-rata nol berarti bahwa *template* dan *window* cocok dengan sempurna. Sebaliknya dengan meningkatnya rata-rata, kesamaan antara struktur antara *template* dan *window* menurun.

2.8 Mathematical Morphology

Morphology adalah satu cabang dari pengolahan citra yang sangat bermanfaat dalam analisis bentuk dalam citra (Indah Susilawati, 2009).

2.8.1 Translasi

Apabila A adalah satu set piksel dalam citra biner dan $w = (c, d)$ adalah satu titik koordinat tertentu, maka A_w adalah A yang ditranslasikan (digeser) pada arah (c, d) . Atau dinyatakan

$$A_w = \{(a, b) + (c, d) \mid (a, b) \in A\} \quad (2.15)$$

Gambar 2.6 Ilustrasi proses Translasi (Murinto Eko A., 2001)

Sebagai contoh adalah pada Gambar 2.6(a). A adalah set atau himpunan yang berbentuk *cross* dan $w = (2, 2)$. Himpunan A digeser ke arah sumbu x dan sumbu y sesuai dengan ketentuan pada w . Dalam hal ini digunakan koordinat matriks (bukan koordinat kartesian) sehingga titik asal seperti terlihat pada Gambar 2.6(a); x berjalan *vertikal* dan y berjalan *horizontal*, sehingga hasilnya tampak pada Gambar 2.6(b).

2.8.2 Refleksi

Jika A adalah satu set piksel dalam citra biner, maka refleksi (cermin) dari A dinotasikan sebagai $A^{\wedge}$ dan diperoleh dengan cara mencerminkan himpunan A terhadap titik asal (*origin*).

$$A^{\wedge} = \{(-a, -b) \mid (a, b) \in A\} \quad (2.16)$$

Pada Gambar 2.7 diperlihatkan contoh cermin dari himpunan lingkaran-lingkaran berwarna putih, lingkaran-lingkaran cerminnya dinyatakan dengan lingkaran berwarna hitam. *Origin* atau titik asal ditentukan oleh koordinat (0, 0).

Gambar 2.7 Ilustrasi proses Refleksi (Indah Susilawati, 2009)

2.8.3 Dilasi (Dilation)

Merupakan operasi dasar dalam *morphology*. Misalkan A dan B adalah himpunan-himpunan piksel. Dilasi A oleh B dinotasikan dengan $A \oplus B$ dan didefinisikan sebagai berikut

$$A \oplus B = \bigcup_{e \in B} A_e \quad (2.17)$$

Ini berarti bahwa untuk setiap titik $e \in B$, maka dilakukan translasi atau penggeseran dan kemudian menggabungkan seluruh hasilnya (union). Atau secara matematis dituliskan sebagai

$$A \oplus B = \{(a,b) + (u,v) \mid (a,b) \in A, (u,v) \in B\} \quad (2.18)$$

Dilasi mempunyai hukum komutatif, yaitu

$$A \oplus B = B \oplus A \quad (2.19)$$

Gambar 2.8 Ilustrasi proses Dilasi (Indah Susilawati, 2009)

Untuk dilasi maka pada umumnya diasumsikan bahwa A adalah citra yang akan diolah dan B adalah suatu himpunan piksel. Himpunan piksel B sering disebut *structuring element* atau *kernel*.

Gambar 2.9 Ilustrasi proses Dilasi (Indah Susilawati, 2009)

2.8.4 Erosi (*Erosion*)

Jika diketahui himpunan A dan B , maka erosi A oleh B (dinotasikan $A \ominus B$) didefinisikan sebagai

$$A \ominus B = \{\omega \mid B_{\omega} \subseteq A\} \quad (2.21)$$

Dengan kata lain, erosi A oleh B terdiri atas semua titik $\omega = (m, n)$ dimana B_{ω} ada di dalam himpunan A . Untuk melakukan erosi, B digeser-geser dalam A dan dicari dimana saja B bebar-benar ada di dalam A . Untuk kondisi-kondisi yang memenuhi syarat tersebut maka tandailah titik $(0,0)$ yang bersesuaian dengan B . Titik-titik ini yang merupakan hasil erosi A oleh B . Pada Gambar 2.10 ditunjukkan erosi A oleh B .

Gambar 2.10 Ilustrasi proses Erosi A oleh B (Indah Susilawati, 2009)

Sebagaimana pada dilasi, maka pada operasi erosi umumnya A diasumsikan sebagai citra yang akan diproses dan B adalah satu set (himpunan) piksel yang juga disebut *structuring element* atau *kernel*. Erosi juga sering dihubungkan dengan *Minkowski subtraction* yang didefinisikan sebagai

$$A - B = \bigcap_{e \in B} A_e \quad (2.22)$$

2.8.5 Deteksi Bidang Batas (*Boundary Detection*)

Salah satu aplikasi operasi erosi dan dilasi adalah untuk deteksi bidang batas suatu objek dalam citra. Jika A adalah suatu citra dan B adalah suatu *structuring element* yang kecil yang terdiri atas titik yang diletakkan secara simetris terhadap *origin*, maka dapat didefinisikan bidang batas A dengan beberapa metode :

$$\begin{aligned} \text{(i)} \quad A - (A \ominus B) & \quad \text{"internal boundary"} \\ \text{(ii)} \quad (A \oplus B) - A & \quad \text{"external boundary"} \\ \text{(iii)} \quad (A \oplus B) - (A \ominus B) & \quad \text{"morphological gradient"} \end{aligned} \quad (2.23)$$

2.8.6 Opening

Merupakan operasi *morphology* yang dapat dikategorikan sebagai operasi level kedua dengan arti bahwa *opening* dan *closing* dibangun berdasarkan operasi dilasi dan erosi.

Misalkan terdapat citra A dan *structuring element* B , maka *opening* A oleh B dinyatakan dengan notasi $A \circ B$ dan didefinisikan sebagai berikut :

$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus B \quad (2.24)$$

Sehingga operasi *opening* merupakan sebuah operasi yang terdiri atas operasi erosi diikuti oleh operasi dilasi. Definisi ekivalennya dapat dinyatakan sebagai berikut :

$$A \circ B = \cup \{B_\omega : B_\omega \subseteq A\} \quad (2.25)$$

Yang berarti bahwa $A \circ B$ adalah gabungan (*union*) dari seluruh pergeseran B yang benar-benar tercakup (*fit*) dalam A . Hal ini berbeda dengan operasi erosi dimana erosi hanya terdiri atas titik $(0, 0)$ dari B sedangkan pada operasi *opening* maka terdiri atas semua titik pada B seperti terlihat pada Gambar 2.11.

Gambar 2.11. ilustrasi himpunan piksel A dan B (Indah Susilawati, 2009)

Pada Gambar 2.12 ditampilkan ilustrasi hasil erosi dan hasil opening citra A oleh B. Operasi *opening* cenderung akan memperhalus objek pada citra, memutus sambungan yang sempit (*break narrow joins*), dan menghilangkan efek pelebaran pada objek (*remove protrusions*).

Gambar 2.12 Hasil erosi dan hasil opening citra A oleh B (Indah Susilawati, 2009)

2.8.7 Closing

Closing didefinisikan sebagai operasi dilasi yang dilanjutkan dengan operasi erosi, dinotasikan sebagai $A \bullet B$, sehingga dapat dinyatakan

$$A \bullet B = (A \oplus B) \ominus B \quad (2.26)$$

Gambar 2.13 Himpunan piksel A dan B (Indah Susilawati, 2009)

Operasi *closing* juga cenderung akan memperhalus objek pada citra, namun dengan cara menyambung pecahan-pecahan (*fuses narrow breaks and thin gulf*) dan menghilangkan lubang-lubang kecil pada objek.

Gambar 2.14 Hasil proses *Closing* (Indah Susilawati, 2009)

2.8.8 Morphology Filtering

Apabila terdapat citra biner A yang terkena derau *impuls* – piksel yang seharusnya hitam menjadi putih dan sebaliknya. Maka $A \ominus B$ akan menghilangkan piksel hitam tunggal namun akan memperbesar lubang-lubang yang ada. Untuk menghilangkan lubang dapat dilakukan dilasi dua kali secara berurutan.

$$((A \ominus B) \oplus B) \oplus B \quad (2.27)$$

Dilasi yang pertama akan mengembalikan lubang-lubang ke ukuran semula dan operasi dilasi yang kedua akan menghilangkan lubang-lubang tersebut. Namun hal ini juga akan memperbesar objek pada citra. Untuk mengembalikan objek ke ukuran semula maka dapat dilakukan erosi, sehingga operasi secara keseluruhan dapat dinyatakan sebagai berikut.

$$(((A \ominus B) \oplus B) \oplus B) \ominus B \quad (2.28)$$

Operasi tersebut juga dapat dinyatakan sebagai berikut

$$(A \circ B) \bullet B \quad (2.29)$$

Operasi tersebut disebut *morphology filtering* (Indah Susilawati, 2009).

2.9 Segmentasi

Dalam visi komputer, segmentasi adalah proses mempartisi citra digital menjadi beberapa segmen. Tujuan dari segmentasi adalah untuk menyederhanakan dan/atau mengubah penyajian gambar ke sesuatu yang lebih bermakna dan lebih mudah untuk menganalisis. Gambar segmentasi biasanya digunakan untuk menemukan objek dan batas-batas (garis, kurva, dll) dalam gambar. Lebih tepatnya, segmentasi citra adalah proses untuk menempatkan label untuk setiap piksel dalam sebuah gambar sehingga piksel dengan kumpulan label yang sama karakteristik visual tertentu.

Hasil segmentasi citra adalah seperangkat segmen yang secara kolektif mencakup seluruh gambar, atau satu set kontur diekstrak dari citra (lihat deteksi tepi). Setiap piksel dalam suatu wilayah mirip dengan memperhatikan beberapa karakteristik properti atau dihitung, seperti warna, intensitas, atau tekstur. Daerah yang berdekatan sangat berbeda sehubungan dengan karakteristik yang sama (Linda, 2001).

Segmentasi citra pada umumnya berdasar pada sifat *discontinuity* atau *similarity* dari intensitas piksel. Pendekatan *discontinuity* adalah mempartisi citra bila terdapat perubahan intensitas secara tiba-tiba (*edge based*). Pendekatan *similarity* adalah mempartisi citra menjadi daerah-daerah yang memiliki kesamaan sifat tertentu (*region based*) contoh: *thresholding*, *region growing*, *region splitting and merging*.

2.10 Pelabelan Objek

Bila Citra mengandung objek lebih dari satu, maka masing-masing objek dapat dihitung secara sendiri-sendiri melalui operasi pelabelan yaitu dengan cara menemukan komponen terkoneksi dalam citra karena suatu komponen terkoneksi mewakili sebuah objek. Kumpulan piksel ini dianggap sebagai objek tunggal bila tidak lagi tersambung dengan kumpulan piksel lainnya.

Algoritma untuk menemukan komponen terkoneksi dalam sebuah citra dan menandainya disebut Operasi Pelabelan Komponen. Gambar 2.15 menggambarkan sebuah citra biner dan urutan pemberian label pada objek-objeknya.

Gambar 2.15 Sebuah citra biner dan urutan pemberian label pada objek
(T. Sutoyo, 2009)

Algoritma untuk pelabelan komponen dibedakan menjadi Algoritma Rekursif dan Algoritma Sekuen.

a. Algoritma Rekursif :

Algoritma rekursif lebih cocok digunakan untuk citra berukuran kecil dengan jumlah objek tidak terlalu banyak.

Langkah-langkah algoritma Rekursif :

1. Baca citra secara sistematis (misal dari kiri ke kanan, atas ke bawah) untuk menemukan piksel objek yang belum diberi label dan beri label baru.
2. Beri label yang sama pada semua piksel tetangganya.
3. Berhenti bila tidak ada lagi tetangga yang merupakan piksel objek.
4. Ulangi langkah 1 sampai 3 hingga semua piksel objek diberi label.

b. Algoritma Sekuen :

Algoritma Sekuen lebih cocok digunakan untuk citra berukuran besar dengan jumlah objek banyak.

Langkah-langkah Algoritma Sekuen :

1. Baca citra secara sistematis.
2. Jika piksel yang sedang dibaca adalah milik objek, maka :
  - a. Jika hanya satu dari dua piksel disebelah kiri dan atasnya yang punya label, salin labelnya.
  - b. Jika keduanya mempunyai label yang sama, salin labelnya.
  - c. Jika keduanya mempunyai label yang berbeda, salin label milik piksel di atasnya dan catat kedua label pada tabel ekivalen label.
  - d. Beri label baru pada piksel ini dan catat nomor label dalam tabel.

3. Jika masih ada piksel yang perlu diperiksa, ulangi langkah 2.
4. Temukan label terendah untuk setiap pasangan ekivalen dalam tabel.
5. Baca citra, ganti setiap label dengan label terendah dalam ekivalen tabel.

2.11 Studi Hasil Penelitian Sebelumnya

Sistem yang digunakan untuk membantu analisis spermatozoa telah dimulai pada tahun 1988 generasi awal tersebut dinamakan *CASMA* dengan menggunakan mikroskop pencahayaan fase kontras. Pada laporan yang ditulis oleh Donald T. Stephens dkk pada tahun 1988 generasi awal *sperma analyzer* tersebut menggunakan perekaman analog, segmentasi dan penjejakan dilakukan antar dua *frame*. Penjejakan *spermatozoa* pada *frame* berikutnya dengan jendela yang memperhitungkan kecepatan maksimal motilitas *spermatozoa* antar *frame*. Pemisahan *spermatozoa* dilakukan berdasarkan posisi masing-masing *spermatozoa* dan penanda yang dimiliki oleh tiap *spermatozoa*. Selama proses penjejakan, rekaman video ditampilkan pada layar monitor. Kepala *spermatozoa* yang hilang ketika penjejakan akan diberi tanda (+) di posisi terakhir, sehingga laboran dapat mengevaluasi akurasi penjejakan. Sistem ini dapat melakukan penjejakan dengan akurasi sebesar 85%. Ada beberapa kelemahan pada sistem ini, yaitu:

1. Jumlah *spermatozoa* selama proses dibatasi sebanyak 20.
2. Tidak real time.
3. Terdapat *spermatozoa* yang lepas selama proses penjejakan.

Beberapa tahun kemudian diperkenalkan sebuah sistem yang disebut *RSTS* (Young dkk, 1996) untuk mengatasi kendala-kendala pada *sperm analyzer system*. *RSTS* (*Real Time Spermatozoa Tracing System*) sesuai dengan namanya, sistem ini dikembangkan dengan metode pengamatan *real-time spermatozoa* ketika memasuki ruang pandang mikroskop dan menjejaki lintasannya selama periode waktu tertentu. Penjejakan lintasan *spermatozoa* tersebut memberikan informasi hasil pengukuran berupa nilai-nilai kinematika yang dapat digunakan untuk analisa motilitas *spermatozoa*. Sistem ini menggunakan mikroskop pencahayaan fase kontras untuk merekam *spermatozoa* dengan bentuk seperti bulatan-bulatan

bercahaya, *spermatozoa* tersebut disegmentasi menggunakan metode *threshold grey-level*. Secara berkala sistem akan melakukan *scanning* dalam ruang pandang mikroskop searah garis vertikal dan garis horizontal. Jika sistem menemukan *spermatozoa* maka sistem akan menyimpan ruang pandang seukuran $(n \times n)$ piksel yang telah ditentukan sebelumnya oleh user. Kemudian *spermatozoa* akan dipindahkan ke titik pusat box. Begitu seterusnya sampai *spermatozoa* hilang dari ruang pandang mikroskop atau sampai jumlah maksimal kotak sesuai dengan masukan user. Jumlah total *frame* pengamatan dapat mencapai 100-150 buah, jauh lebih banyak daripada kebanyakan sistem CASA saat itu. Sistem ini juga memiliki kelemahan diantaranya adalah :

1. Jumlah *spermatozoa* dalam box pengamatan berpotensi mengganggu penentuan kinematika *spermatozoa*.
2. Ukuran box menentukan kecepatan dan akurasi penjejakan *spermatozoa*.
3. Jika box yang dipergunakan besar, ada kemungkinan beberapa *spermatozoa* tergabung dalam satu box sehingga mempersulit perhitungan trayektori *spermatozoa*. Dengan kemampuan perekaman menurun hingga 12 *frame*/detik.
4. Jika box yang dipergunakan kecil maka ada kemungkinan *spermatozoa* terlepas dari proses penjejakan.

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 3

METODE PENELITIAN

Penelitian untuk mengidentifikasi abnormalitas pergerakan *spermatozoa* dimulai dengan desain sistem perangkat keras. Jenis mikroskop yang digunakan *bright field microscope*. Sistem ini menghasilkan video rekaman pergerakan *spermatozoa*. Video rekaman motilias *spermatozoa* tersebut menjadi masukan tahap penjejakan *spermatozoa* menggunakan *mean filterbackground subtraction* dan *mathematical morphology*. Penjejakan *spermatozoa* menghasilkan nilai posisi 2 dimensi. Variabel *RMS* (*root mean square*) yang dibutuhkan untuk menentukan abnormalitas pergerakan *spermatozoa* dihitung dari posisi *spermatozoa* selama bergerak dalam lintasan tertentu.

3.1 Desain Sistem

Secara umum, desain sistem penentuan abnormalitas pergerakan *spermatozoa* manusia berbasis *regresi linier* seperti pada Gambar 3.1.

Gambar 3.1 Desain Sistem

3.2 Data yang digunakan

Semua proses pengambilan video dilakukan di Laboratorium Terpadu Pendidikan dan Penelitian (DIKLIT) Politeknik Kesehatan Surabaya, Jalan Pucang Jajar Tengah 56 Surabaya.

Data yang digunakan dalam penelitian ini, berupa video sperma diperoleh dari hasil pemindaian cairan sperma relawan yang bersedia menyumbangkan cairan spermanya. Sebelum diamati, sampel tersebut didiamkan terlebih dahulu sekitar 20-30 menit dengan suhu ruang untuk kemudian diamati. Hal tersebut perlu dilakukan karena pada saat cairan sperma dikeluarkan masih kental dan perlu pengenceran supaya *spermatozoa* yang diamati tidak terlalu rapat, bergerak lebih aktif dan dapat jelas dibedakan.

Pengambilan video sperma menggunakan perangkat keras, terdiri dari :

1. *bright field microscope*
2. kamera yang digunakan merk *Point Grey* tipe FL3-U3-13S2C-CS yang ditempatkan sebagai pengganti lensa okuler dengan koneksi kabel *USB 3.0*
3. laptop merk Asus X450JF dengan prosessor Core i7, memori RAM 4 GB dan hardisk 500 GB.

(a)

(b)

Gambar 3.3(a) *Bright field microscope* yang digunakan,
(b) Cairan sperma yang sudah ditetaskan di atas kaca preparat

Perekaman video dengan mikroskop diatur menggunakan lensa objektif perbesaran 40 kali sehingga motilitas *spermatozoa* terlihat jelas untuk diamati. *Setting* kamera dan program diatur supaya video mempunyai kontras, *brightness* dan *white balance* yang sama. Ruang pandang mikroskop diatur tidak bergerak selama proses perekaman. Video yang dihasilkan disimpan dan kemudian dikonversi untuk kemudian dapat diproses. Gambar 3.3(a) adalah mikroskop beserta kamera yang dimaksud, dan Gambar 3.3(b) adalah sampel cairan semen di atas preparat yang siap untuk direkam. Rekaman ini diatur untuk mendapatkan file video beresolusi 1280 x 960 piksel dengan *frame rate* 60 fps. Karena komputer yang digunakan kinerjanya tidak dapat menyaingi laju *frame rate* dari video, sehingga terkadang terjadi kelambatan hingga Sembilan *frame* berturut-turut. Hasilnya adalah gambar video yang tersendat-sendat dengan pergerakan objeknya pun menjadi meloncat-loncat (tidak *smooth*).

3.4 Rekonstruksi Latar Belakang (*Background Reconstruction*)

Untuk mengidentifikasi sperma yang bergerak, diperlukan kemampuan sistem untuk memisahkan *background* dan *foreground* yang berupa *spermatozoa* yang bergerak. Menggunakan *background* yang didapat dengan cara melakukan pemindaian ketika tidak ada sperma yang bergerak.

Penggunaan *background* dengan cara seperti ini menimbulkan 2 kesulitan besar, kesulitan pertama adalah proses mendapatkan *background*. Hal ini tentu sangat menyulitkan karena sukar sekali memperoleh kondisi dengan tidak ada sperma yang bergerak atau tidak ada sperma sama sekali, tidak mungkin dilakukan pemberhentian semua sperma untuk mendapatkan *background* yang diinginkan. Kesulitan kedua adalah ketidak tepatan *background* yang diperoleh dengan kondisi realtime saat itu. Jika *background* didapatkan pada satu lokasi pengamatan, kemudian *background* tersebut digunakan untuk mendeteksi sperma pada lokasi lain maka akan timbul permasalahan diakibatkan oleh ketidak samaan *background* dengan kondisi realtime saat itu diakibatkan oleh perbedaan kondisi lokasi.

Beberapa peneliti sudah melakukan penelitian tentang rekonstruksi *background* menggunakan serangkaian gambar bergerak. Pada (Kornprobst dkk,

1999), dapat ditarik kesimpulan bahwa *background* merupakan gambar yang paling sering terlihat dari serangkaian gambar bergerak, dengan kata lain bahwa elemen pembentuk *background* memiliki frekuensi kemunculan yang paling sering.

Pada (Long dkk, 1990), penulis mempunyai asumsi bahwa *background* memiliki intensitas yang stabil pada waktu yang lama. Pada (Gloyer dkk, 1995), penulis mempunyai asumsi bahwa *background* setidaknya akan terlihat lebih dari 50 % dari serangkaian gambar bergerak.

Dari beberapa asumsi diatas, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa *background* dapat diperoleh dengan cara mengambil nilai rata-rata dari serangkaian gambar, nilai rata-rata tersebut akan mendekati gambar *background* yang diinginkan. Metode ini sudah umum dipakai oleh beberapa peneliti dengan menggunakan istilah *TABI* (*time-averaged background image*).

Langkah-langkah untuk mendapatkan *background* dengan memisahkan dari *foreground* berdasarkan video sperma dapat dijelaskan sebagai berikut :

Langkah ke-1: Ekstraksi Video

Video diekstrak untuk mendapatkan *frame-frame* dari video tersebut.

Langkah ke-2: Memperoleh *frame* hasil rata-rata *frame* video

Frame hasil ekstraksi dipilih, kemudian diambil nilai rata-rata per piksel menggunakan persamaan 1. *Frame* yang dipilih dapat berupa semua *frame* ataupun *frame* tertentu berdasarkan selang yang diinginkan.

3.5 Mendapatkan Citra Biner

Pada tahapan ini dilakukan proses segmentasi untuk membedakan atau memisahkan objek yang diamati dengan latar belakangnya (*background*), sebagai hasil segmentasi berupa citra biner. Sebagai masukan untuk proses ini yaitu citra dari *frame-frame* hasil ekstraksi video dan *frame* rata-rata hasil proses *TABI*. Selanjutnya dilakukan proses *mean filter* yang menghasilkan nilai selisih nilai piksel yang bersesuaian koordinatnya untuk seluruh piksel. Kemudian dilanjutkan proses thresholding dengan metode *Otsu threshold*, di mana nilai selisih yang

lebih kecil dari nilai *threshold*, maka nilai warna diubah menjadi 0 dan jika nilai lebih besar atau sama dengan dari nilai *threshold* maka nilai warna dirubah menjadi 1. Dengan demikian akan didapatkan citra biner.

3.6 Proses Filtering

Gambar 3.5 Diagram alir proses *filtering*

Fitur dari citra yang telah diperoleh dari proses segmentasi biasanya masih terdapat *noise*, hal ini diakibatkan dari objek yang tidak diinginkan ikut tersegmentasi. Untuk menghilangkan *noise* tersebut dilakukan proses *morphological filtering* seperti terlihat pada Gambar 3.5. Proses menggunakan *morphological filtering* pertama adalah membuang objek yang mempunyai piksel kurang dari 400 piksel. Untuk objek yang mempunyai jumlah piksel lebih dari

400 dipertahankan. Proses yang kedua adalah membuat objek menjadi lebih halus dengan cara menutup celah-celah kecil dari objek. Proses ini menggunakan teknik operasi *morfologi* citra, dimana citra yang diperoleh masih perlu dihaluskan garis tepinya menggunakan teknik *closing*. *Closing* merupakan operasi *morfologi* yang dapat dikategorikan sebagai operasi level kedua dengan arti bahwa *closing* didefinisikan sebagai operasi *dilasi* yang dilanjutkan dengan operasi erosi, Pada operasi *closing* cenderung memperhalus objek pada citra dengan cara menyambung pecahan-pecahan dan menghilangkan lubang-lubang kecil pada objek.

3.7 Labeling Objek dan Menghitung Koordinat Titik pusat Objek

Gambar 3.6 Diagram alir untuk labeling objek dan koordinat titik pusat objek

Dari Gambar 3.6 terlihat, setelah citra diperbaiki dengan proses *filtering*, berikutnya citra tersebut dicari batasnya menggunakan metode deteksi bidang batas (*boundary detection*) untuk masing-masing objek serta dilabeli untuk setiap objek yang ditemukan. Dari masing-masing objek yang ditemukan, kemudian

dicari koordinat titik pusat dari objek (h, k) tersebut menggunakan persamaan (3.1).

$$h = \frac{\sum_{i=1}^n C_i m_i}{\sum_{i=1}^n C_i} \quad k = \frac{\sum_{i=1}^n C_i o_i}{\sum_{i=1}^n C_i} \quad (3.1)$$

dengan :

- C_i = luasan piksel objek
- (h, k) = koordinat titik pusat objek, h untuk komponen mendatar dan k untuk komponen tegak
- (m, o) = koordinat piksel-piksel yang ada di objek, m untuk komponen mendatar dan o untuk komponen tegak
- i = 1, 2, 3, ... n
- n = jumlah piksel

Pada penelitian ini luasan piksel C_i besarnya 1 satuan, maka persamaan 3.1 menjadi :

$$h = \frac{\sum_{i=1}^n m_i}{n} \quad k = \frac{\sum_{i=1}^n o_i}{n} \quad (3.2)$$

3.8 Regresi Linier Lintasan Spermatozoa

Proses penjejakan *spermatozoa* selama satu sekuen pada ruang pandang yang statis akan menghasilkan nilai-nilai posisi dua dimensi penggambaran motilitasnya. Untuk dapat mengetahui bentuk gerakan dari *spermatozoa*, maka diperlukan suatu garis uji yang diambil dari regresi linier kumpulan koordinat posisi *spermatozoa*.

$$y = E + Fx \quad (3.3)$$

$$E = \frac{n \sum_{i=1}^n h_i k_i - \sum_{i=1}^n h_i \sum_{i=1}^n k_i}{n \sum_{i=1}^n h_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n h_i \right)^2} \quad (3.4)$$

$$F = \frac{\sum_{i=1}^n k_i \sum_{i=1}^n h_i^2 - \sum_{i=1}^n h_i \sum_{i=1}^n h_i k_i}{n \sum_{i=1}^n h_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n h_i \right)^2} \quad (3.5)$$

Dengan n adalah jumlah data, x adalah sumbu x , y adalah sumbu y , E adalah konstanta dan F adalah koefisien regresi (kemiringan dari garis regresi). Garis regresi linier $y = E + Fx$ melewati kumpulan nilai posisi motilitas *spermatozoa* dan diukur jaraknya terhadap posisi motilitas *spermatozoa* selama satu sekuen.

3.9 Root Mean Square (RMS)

Untuk melihat apakah rata-rata posisi motilitas *spermatozoa* berada di garis linier maka perlu dicari nilai RMS , yang membandingkan nilai prediksi (garis regresi linier) dan posisi motilitas *spermatozoa* selama satu sekuen. Jika diberikan satu set data sebanyak n yakni $\{X_1, X_2, \dots, X_n\}$ maka nilai RMS nya adalah

$$RMS = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n r_i^2} \quad (3.6)$$

dengan :

- RMS = nilai rata-rata jarak posisi spermatozoa terhadap garis regresi linier
- r = jarak posisi *spermatozoa* terhadap garis regresi linier
- n = jumlah data

Gambar 3.7 Ilustrasi menentukan jarak titik terhadap persamaan garis

Pada Gambar 3.7, memperlihatkan ilustrasi untuk menghitung nilai r yaitu jarak antara titik $Q(s, z)$ dengan sebuah persamaan garis. Untuk mendapatkan persamaan garis $Gx + Hy + J = 0$ digunakan persamaan berikut :

$$Gx + Hy + J = 0 \quad (3.7)$$

$$G = n \sum_{i=1}^n h_i k_i - \sum_{i=1}^n h_i \sum_{i=1}^n k_i \quad (3.8)$$

$$H = \left(\sum_{i=1}^n h_i \right)^2 - n \sum_{i=1}^n k_i^2 \quad (3.9)$$

$$J = \sum_{i=1}^n h_i^2 \sum_{i=1}^n k_i - \sum_{i=1}^n h_i \sum_{i=1}^n h_i k_i \quad (3.10)$$

Untuk menghitung nilai jarak r antara titik $Q(s, z)$ dengan garis $Gx + Hy + J = 0$ digunakan persamaan berikut ini

$$r = \frac{|Gs + Hz + J|}{\sqrt{G^2 + H^2}} \quad (3.11)$$

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil percobaan dan analisis pada perangkat keras dan perangkat lunak yang menggunakan rekonstruksi latar belakang (*background reconstruction*), *mean filter background subtraction*, peningkatan kontras Otsu *threshold*, operasi morfologi pada proses *filtering* untuk mendapatkan penjejak objek sperma, serta penghitungan *regresi linier* dan nilai *RMS*, dapat diambil beberapa kesimpulan. Serta ditambahkan saran dalam pengembangan penelitian berikutnya.

5.1 Kesimpulan

Dengan perangkat yang dikembangkan, penentuan abnormalitas pergerakan *spermatozoa* manusia pada file video dapat dilakukan. Posisi pergerakan *spermatozoa* hasil penjejak dikenali bentuk lintasannya berdasarkan rata-rata jarak posisinya terhadap garis regresi linier, dengan *threshold* 10 terdapat 4 *spermatozoa* progresif dan 4 *spermatozoa* non progresif untuk data uji, sedangkan untuk video data *spermatozoa* manusia terdapat 10 *spermatozoa* progresif dan 4 *spermatozoa* non progresif. Metode yang digunakan berhasil menentukan 8 (delapan) *spermatozoa* data UNSW Embryology, dan 14 *spermatozoa* manusia. Dari 8 *spermatozoa* data uji yang dijejaki, terdapat 50% progresif dan 50% non progresif. Sedangkan untuk 14 *spermatozoa* manusia yang dijejaki, terdapat 71% progresif dan 29% non progresif. Menurut WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen tahun 2010 dengan nilai 71% progresif berarti pergerakan *spermatozoa* manusia normal.

5.2 Saran

1. Untuk penelitian berikutnya perlu adanya perangkat keras pengambilan data yang bisa menjamin kualitas video lebih baik.
2. Pada proses identifikasi dapat ditambahkan algoritma cerdas untuk mengidentifikasi objek sperma.

Halaman ini sengaja dikosongkan