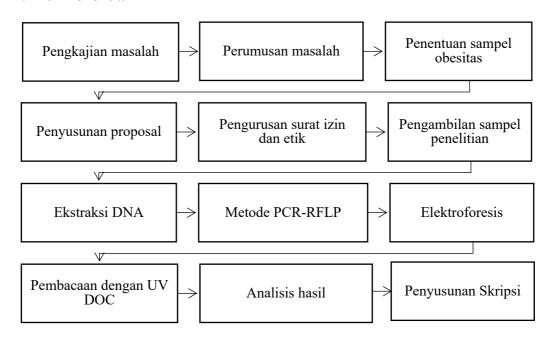
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian kuantitatif dengan desain deskriptif. Metode kuantitatif dipilih karena memungkinkan peneliti untuk mengkaji hal-hal yang telah ditentukan secara spesifik, rinci, dan terukur sejak awal, serta menghasilkan data dalam bentuk angka. Sementara itu, desain deskriptif digunakan untuk menggambarkan keadaan atau fenomena yang sedang berlangsung, baik yang berkaitan dengan kelompok manusia, objek, kondisi, pemikiran, maupun peristiwa saat ini. Penelitian ini untuk mengetahui polimorfisme gen *ADIPOQ* pada kasus obesitas, memungkinkan identifikasi polimorfisme yang ditargetkan dengan memotong DNA pada situs pengenalan enzim restriksi tertentu (Sugiyono, 2024).

B. Alur Penelitian



Gambar 2 Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Denpasar yang berlokasi di Jl. Pulau Moyo No. 33, Pedungan, Denpasar Selatan. Sementara itu, proses pengambilan sampel dilakukan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian diawali dengan bulan September 2024 hingga April 2025 yang diawali dengan penyusunan proposal penelitian dan dilanjuti dengan melakukan penelitian sampai dengan tahap penyusunan laporan akhir.

D. Populasi dan Sampel

1. Unit analisis

Dalam penelitian ini, unit analisisnya adalah polimorfisme gen *ADIPOQ* pada kasus obesitas di Poltekkes Kemenkes Denpasar tepatnya di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

2. Populasi

Secara spesifik, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar mengikutsertakan mahasiswa dengan BMI ≥ 25,0 kg/m2 yang berusia antara 18 sampai 23 tahun.

3. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah sampel EDTA dari mahasiswa obesitas pada wilayah Poltekkes Kemenkes Denpasar tepatnya di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis dengan usia, berat badan, tinggi badan, dan IMT.

Menggunakan 20 sampel dengan menyesuaikan ketersediaan, kemampuan, dan biaya penelitian. Untuk pengambilan sampel darah digunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega)*. DNA genomik yang diperoleh kemudian diperiksa polimorfisme pada gen *ADIPOQ* menggunakan metode *PCR-RFLP*.

4. Jumlah dan besar sampel

Jumlah sampel yang digunakan sebesar 20 sampel 10 orang obesitas dan 10 orang non obesitas pada wilayah Poltekkes Kemenkes Denpasar di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

5. Kriteria sampel penelitian

- a. Kriteria Inklusi
- 1) Mahasiswa yang mengisi *informed consent* dan setuju untuk berpartisipasi sebagai responden
- 2) Mahasiswa berusia antara 18 sampai 23 tahun
- 3) Mahasiswa yang tidak terdiagnosis diabetes melitus tipe II atau gangguan sistemik lainnya tetapi memiliki IMT \geq 25,0 kg/m²
- 4) Mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Denpasar.
- b. Kriteria Eksklusi
- 1) Sampel darah yang tidak memenuhi persyaratan untuk analisis PCR-RFLP, seperti sampel yang mengalami lisis, mengandung lemak berlebih (lipemik), berwarna kekuningan (ikterik), mengalami penggumpalan (clumping), atau telah disimpan terlalu lama, karena dapat mengubah biologi dan mendegradasi DNA,

yang dapat menurunkan ketepatan hasil analisis, terutama pada tahap ekstraksi DNA.

- Mahasiswa dengan kondisi jangka panjang seperti tekanan darah tinggi, gangguan hati, jantung, dan ginjal.
- 3) Mahasiswa yang tidak memberikan persetujuan untuk berpartisipasi sebagai responden dalam penelitian.

6. Teknik pengambilan sampel

Dalam penelitian ini, metodologi pengambilan sampel insidental—yaitu strategi pengambilan sampel berdasarkan pertemuan kebetulan—dikombinasikan dengan metode pengambilan sampel non-probabilitas. Artinya, siapa pun yang kebetulan ditemui peneliti dapat dijadikan sampel, asalkan orang tersebut memenuhi persyaratan peneliti dan dianggap tepat sebagai sumber data (Sugiyono, 2024).

a. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain thermal cycler, UV documentation (UV-DOC), alat elektroforesis, vortex, spindown, centrifuge, incubator, microcentrifuge, refrigerator, laminar air flow, mikropipet berujung kuning dan biru, labu Erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, hotplate, pengaduk magnetik, dan rak tabung reaksi.

Bahan-bahan penelitian ini meliputi sampel whole blood EDTA serta Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega), yang terdiri dari cell lysis solution, nuclei lysis solution, DNA rehydration solution, protein precipitation solution, RNase A Solution. Selain itu, digunakan isopropanol, etanol 70%, Tris base, asam borat, EDTA, air destilasi, serta reagen PCR Master Mix, yang meliputi Taq 2x Master Mix, 25 mM MgCl₂, primer forward 10 μM, primer reverse 10 μM, PCR-

grade H₂O, template DNA, dan nuclease-free water (NFW). Enzim restriksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah EcoRI, primer forward GGG AAA GCC AAC TCC ATC TCT, primer reverse GGG CAG GCC ACA GTC TTT T, microtube, yellow tip, blue tip, white tip, TAE 50X, TE buffer, loading dye, DNA ladder 100 bp, staining gel, bubuk agarose, aquadest, tissue, dan shield/parafilm.

- b. Prosedur Kerja
- 1) Pada Tahapan Pra-Analitik
- a) Desain primer
- (1) Pencarian sekuens gen pada NCBI
- (a) Langkah awal, kunjungi situs *National Center for Biotechnology Information*(NCBI). Pada kolom pencarian, ubah opsi dari "*All Databases*" menjadi
 "Gene", lalu masukkan nama gen target, yaitu *ADIPOQ*, dan tekan *Enter*
- (b) Pilih hasil pencarian yang sesuai dengan spesies yang diinginkan, seperti *Homo* sapiens.
- (c) Buka halaman gen tersebut dan cari bagian berisi urutan FASTA. Salin seluruh urutan nukleotidanya (ATGC).
- (2) Analisis restriction site menggunakan benchling
- (a) Buka situs *Benchling* dan buat proyek baru dengan memilih opsi *Create Project*.
- (b) Pilih opsi *New* DNA/RNA Sequence, kemudian tempelkan urutan FASTA yang telah diperoleh dari NCBI
- (c) Buka bagian pengaturan (settings) dan aktifkan fitur cut site untuk menampilkan lokasi enzim EcoRI (GAATTC) pada urutan nukleotida.
- (3) Desain primer menggunakan primer express 3.0.1

- (a) Jalankan aplikasi *Primer Express versi 3.0.1*, lalu masukkan urutan DNA dari *Benchling* ke dalam software tersebut.
- (b) Pilih lokasi untuk mendesain pasangan primer yang mengapit area sekitar situs EcoRI
- (c) Pastikan primer yang dirancang memiliki panjang sekitar 18–25 basa, kandungan GC antara 40–60%, dan suhu *annealing* (Tm) yang ideal antara 50–60°C.
- (d) Simpan primer forward dan reverse yang telah didesain.
- (4) Verifikasi primer
- (a) Akese situs NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).
- (b) Pilih opsi *Primer-BLAST* untuk mengevaluasi spesifisitas pasangan primer.
- (c) Pada kolom *forward primer*, tempelkan urutan *primer forward* yang telah didesain dan pada kolom *reverse primer*, tempelkan urutan *primer reverse*.
- (d) Pilih *RefSeq Representative Genomes* untuk memastikan hasil spesifik pada database referensi.
- (e) Ketik dan pilih opsi *Homo sapiens* agar pencarian terbatas pada genom manusia.
- (f) Klik *BLAST* dan tunggu hasil analisis primer.
- (g) Hasil akan menunjukkan apakah primer hanya menargetkan satu lokasi pada genom manusia atau memiliki hasil lain. Pastikan hanya ada satu produk amplifikasi utama dengan ukuran sesuai target dengan idealnya hanya ada 1 produk pada template target.
- (h) Jika ada lebih dari satu produk, primer mungkin tidak spesifik dan harus didesain ulang

- (i) Setelah desain primer dikonfirmasi, *primer forward GGG AAA GCC AAC TCC ATC TCT*, *primer reverse GGG CAG GCC ACA GTC TTT T* dapat dipesan ke vendor penyedia sintesis oligonukleotida.
- (5) Pengambilan sampel
- (1) Identifikasi pasien dengan mencatat nama, usia, jenis kelamin, tinggi badan, berat badan dan menulis data pasien pada tabung darah EDTA.
- (2) Petugas memakai Hand gloves
- (3) Persiapkan peralatan yang dibutuhkan, *spuit* 3 cc steril / jarum *vacutainer*, *holder*, *tourniquet*, tabung EDTA, *alcohol swab*, kapas kering, dan plester.
- (4) Raba *vena mediana cubiti* dengan memasang tourniquet pada lengan pasien untuk memudahkan proses pengambilan darah.
- (5) Bersihkan area yang akan disuntik menggunakan alcohol swab.
- (6) Masukkan jarum ke dalam vena dengan benar, lalu tampung darah ke dalam tabung EDTA.
- (7) Setelah darah terkumpul, lepaskan tabung dari *holder*.
- (8) Petugas menutup bekas tusukan dengan plester setelah menekannya dengan kapas alkohol.
- (9) Saat mengambil darah dengan *spuit*, petugas memasukkan darah ke dalam tabung melalui dinding; saat menggunakan jarum *vacuntainer*, tabung dimasukkan setelah darah terlihat pada indikator jarum dan volume darah terkumpul, lalu tabung dilepas (Mojopanggung, 2017).
- (6) Persiapan Master Mix PCR
- (1) Merakit peralatan dan perlengkapan yang dibutuhkan untuk *Laminar Air Flow.* (*LAF*).

- (2) Vortex dan centrifuge MyTaqTM One-Step RT-PCR Kit setelah dicairkan.
- (3) Pastikan setiap komponen reagen campuran PCR telah meleleh sebelum memipet semua komponen selain DNA template ke dalam tabung mikro 1,5 mL.
- (4) Reaksi tunggal dihasilkan untuk satu sampel. Jadi, untuk satu reaksi, total 25 μL reagen disiapkan, dengan komponen-komponen berikut ditambahkan:

Tabel 4
Komponen Master Mix PCR (Ampliqon IIII, 2021)

Component	Volume (1X Reaksi)	Volume (20X Reaksi)
2x MyTaq One-Step Mix	12,5 μL	250 μL
Forward Primer (10 µM)	0,5 μL	10 μL
Reverse Primer (10 µM)	0,5 μL	10 μL
Template RNA	4 μL	80 μL
PCR-grade H ₂ O	7,5 μL	150 μL
Total Volume	25 μL	500 μL

- (5) Beri label pada tutup tabung PCR dengan kode sampel.
- (6) Setelah itu, *spindown* hingga cairan atau reagen pada dinding tabung PCR jatuh ke dasar tabung.
- (7) Isi tabung PCR dengan 4 μL cetakan DNA yang sesuai dengan label kode sampel.
- (8) Homogenkan, lalu lakukan spindown dengan menutupnya dengan rapat.
- (9) Reagen *mix* PCR siap di *running* untuk pada alat *Thermal cycler* (Bioline, 2024).
- (7) Pembuatan Larutan Buffer TAE 50X (1X)
- (1) Siapkan peralatan dan perlengkapan yang diperlukan untuk membuat 1000 mililiter TAE *Buffer* (1X).

- (2) Tuang 20 mililiter larutan TAE konsentrasi 50X ke dalam gelas ukur 1000 mililiter.
- (3) Isi hingga 1000 ml atau 980 ml dengan *aquadest*.
- (4) Setelah itu, homogenkan campuran secara manual dalam labu Erlenmeyer.
- (5) Tutup labu Erlenmeyer dengan *aluminium foil* dan tuliskan nama dan tanggal pembuatannya.
- (6) Larutan buffer TAE sebanyak 1000 ml dengan konsentrasi 1X disiapkan untuk digunakan (Dwi Wahyuni, 2017).
- (8) Pembuatan Gel Agarose 1,5 %
- (1) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- (2) Masukkan serbuk *agarose* ke dalam labu Erlenmeyer setelah ditimbang hingga 2,25 gram.
- (3) Tambahkan 150 ml larutan buffer TAE pada labu erlenmeyer.
- (4) Setelah labu Erlenmeyer diletakkan di atas *hotplate*, tekan tombol ON untuk menyalakannya.
- (5) Setelah memasukkan *magnetic stirrer* ke dalam labu Erlenmeyer, atur kecepatan dan suhu sesuai keinginan.
- (6) Tunggu hingga larutan benar-benar bening.
- (7) Letakkan labu Erlenmeyer di atas meja dan tunggu hingga larutan tidak terlalu panas setelah mematikan *hotplate* dengan menekan tombol OFF setelah larutan bening.
- (8) Masukkan 4 μl pewarna gel *red* dan aduk hingga rata.
- (9) Setelah sisir dimasukkan ke dalam cetakan, tuang larutan *agarose* ke dalamnya dan tunggu hingga memadat. Gel *agarose* 1,5% siap digunakan setelah larutan

agarose memadat menjadi gel. Sisir dapat dikeluarkan dari gel dan diletakkan di atas elektroforus (Rumbiwati dan Trimuratno, 2021).

- 2) Pada Tahapan Analitik
- a) Ekstraksi DNA
- (1) Proses Lisis Sel Darah Merah
- (a) Isi tabung mikro 1,5 ml dengan 900 µL Cell Lysis Solution.
- (b) Tambahkan 300 uL whole blood EDTA.
- (c) Balikkan tabung dua hingga tiga kali saat campuran diinkubasi selama sepuluh menit pada suhu kamar
- (d) Sentrifus pada 13.000–16.000 x g selama 20 menit pada suhu kamar.
- (e) Buang supernatan tanpa membuang partikel putih yang terlihat. Harus ada 10– 20 μL cairan yang tersisa.
- (2) Proses Lisis Nucleic
- (a) Resuspensi pellet menjadi homogen, putar selama sepuluh hingga lima belas detik.
- (b) Untuk melisiskan nucleic, tambahkan 300 μL Nucleic Lysis Solution dan pipet 5-6x.
- (c) Untuk menghomogenkan, inkubasi pada suhu 37°C jika larutan sangat kental atau mengandung gumpalan.
- (3) Proses Penghilangan RNA
- (a) Tambahkan 1,5 μL RNase Solution ke larutan inti, lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.
- (4) Presipitasi Protein

- (a) Tambahkan 100 uL Protein *Precipitation* ke larutan *nucleic*, *vortex* selama10-20 detik.
- (b) Sentrifugasi 13.000 16.000 x g selama 3 menit (suhu ruang), pelet protein berwarna coklat gelap seharusnya terlihat.
- (5) Presipitasi DNA
- (a) Transfer supernatan (tanpa protein pelet) ke tabung mikro baru yang berisi 300 μl isopropanol, bolak-balik tabung secara perlahan hingga DNA membentuk massa putih berbentuk benang.
- (b) Sentrifugasi 13.000 16.000 x g selama 1 menit, DNA akan terlihat seperti pelet putih kecil di dasar tabung.
- (6) Pencucian DNA
- (a) Buang supernatan, lalu tambahkan 300 μl etanol 70% untuk mencuci pellet
 DANN
- (b) Sentrifugasi kembali pada kecepatan 13,000×g selama 1 menit, lalu buang supernatan
- (c) Buang etanol dengan hati-hati menggunakan *mikropipet*, pastikan pelet DNA tidak terhisap
- (7) Rehidrasi DNA
- (a) Tambahkan 100 μL DNA *Rehydration Solution* ke pellet DNA.
- (b) Inkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam atau diamkan semalaman pada suhu ruang hingga DNA larut sepenuhnya (Corporation, 2023).
- (8) PCR-RFLP
- (1) Masukkan ke dalam alat *Thermal cycler*, dengan ketentuan suhu sebagai berikut:

Tabel 5
Suhu Thermal Cycler (Ampliqon IIII, 2021)

Step	Time	Temperature	Cycle
Polymerase	5 menit	95°C	1X
Activation			
Denaturasi	45 detik	95°C	35X
Anneling	45 detik	60°C	
Extension	60 detik	72°C	
Final	5 menit	72°C	1X
Extention			

- (2) Tunggu hingga selesai *running*.
- (3) Simpan hasil PCR pada suhu 4°C bila tidak langsung diproses.
- (4) Campurkan hasil amplifikasi PCR dengan enzim restriksi dan *buffer* enzim sesuai protokol pabrikan.
- (5) Inkubasi dengan suhu 37°C selama 2-24 jam.
- (6) Analisis hasil dengan elektroforesis (Nadila, 2019).
- b) Elektroforesis
- (1) Lapisi elektroforet dengan gel *agarose*, lalu isi alat elektroforesis dengan TAE hingga gel *agarose* tertutup seluruhnya.
- (2) Siapkan *shield* agar sampel dan pewarna pengisi dapat tercampur merata. Siapkan *shield* untuk tempat menghomogenkan sampel dengan *loading dye*
- (3) Oleskan *mikropipet* ke mikroliter sampel ekstraksi DNA, lalu letakkan pada *shield*.
- (4) Ambil kembali *loading dye* sebanyak 5 mikroliter dan campurkan ke dalam sampel ekstraksi DNA
- (5) Gunakan teknik menyedot dan mengeluarkan untuk menghomogenkan sampel dengan *loading dye* berkali-kali.

- (6) Menggunakan *mikropipet*, sedot sepenuhnya bahan yang telah dihomogenkan hingga 6 μl.
- (7) Setelah itu, masukkan secara menyeluruh ke dalam gel agarosa. Untuk sampel yang tersisa, ulangi proses tersebut. A Jalankan alat elektroforesis setelah semuanya telah dimasukkan ke dalam gen agarosa dengan baik.
- (8) Tunggu prosedur elektroforesis selama 77 menit.
- (9) Hasil dapat dilihat pada UV DOC setelah 77 menit dan setelah alat mati (FTTM ITB, 2018).
- c) Pembacaan hasil di UV-DOC
- (1)Untuk mengaktifkan alat *UV Documentation*, colokkan kabel ke stopkontak, klik tombol ON, lalu nyalakan lampu alat.
- (2)matikan lampu alat, nyalakan UV, buka pintu alat *UV Documentation*, lalu masukkan gel agarosa yang telah dikeringkan ke dalam alat sebelum menutupnya kembali.
- (3) Setelah mengaktifkan UV Transluminator, pita DNA akan menyala.
- (4)Matikan lampu UV lalu nyalakan kembali untuk memeriksa temuan gel *agarose* dari prosedur elektroforesis pada layar monitor yang terpasang pada *UV Transluminator. agarose*
- (5) Tutup pintu alat *UV Documentation*, matikan lampu alat sekali lagi, lalu keluarkan gel *agarose* setelah menyelesaikan prosedur observasi dan dokumentasi.
- (6)Lakukan desinfeksi pada bagian dalam alat menggunakan alkohol, tutup kembali pintu alat UV *Documentation*.

(7)Tekan tombol OFF untuk mematikan gadget. Kabel perangkat UV *Documentation* harus dicabut dari stopkontak. (Maharani dan Sumsanto, 2024).



Gambar 3 Hasil Uji Pendahuluan

- 3) Pada Tahapan Pasca Analitik
- a) Amati hasil yang didapat dan dokumentasikan
- b) Melakukan pencucian alat yang digunakan
- c) Menyimpan sisa bahan yang telah dilakukan pemeriksaan

E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data yang dikumpulkan

a. Data Primer

Penelitian ini menggunakan data primer berupa nama, usia, jenis kelamin, alamat, nomor telepon, tinggi badan, berat badan, dan indeks massa tubuh (IMT).

b. Data Sekunder

Sumber data sekunder yang digunakan dalam penelitian ini adalah jurnal, makalah, buku, dan literatur lain yang relevan (Sugiyono, 2024).

2. Teknik Pengumpulan Data

Peneliti sudah mengetahui informasi yang akan dikumpulkan dengan membuat perangkat penelitian seperti pertanyaan tertulis yang identik dengan alternatif jawaban yang telah disiapkan, pengumpulan data untuk penelitian ini dilakukan melalui wawancara terstruktur menggunakan kuesioner yang mencakup nama, jenis kelamin, alamat, nomor telepon, berat badan, tinggi badan, indeks massa tubuh (IMT), dan riwayat kesehatan. Peneliti menggunakan tabung EDTA 3 cc untuk mengambil darah vena dari responden, yang kemudian diuji di laboratorium.

3. Instrumen Pengumpulan Data

Instrumen pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

a. Lembar Persetujuan Informed Consent

Berfungsi untuk mendapatkan persetujuan tertulis dari pasien yang bersedia menjadi partisipan penelitian.

b. Formulir Kuesioner

Untuk memperoleh informasi terkait demografi, riwayat kesehatan, dan aspek klinis lainnya yang relevan dengan penelitian.

c. Alat Tulis

Digunakan untuk mendokumentasikan temuan pengamatan yang dilakukan dan data yang dikumpulkan selama penelitian.

d. Smartphone

Digunakan untuk mendokumentasikan berbagai kegiatan penelitian, termasuk foto hasil laboratorium dan proses pengumpulan data.

F. Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu analisis deskriptif untuk menggambarkan karakteristik data yang dikumpulkan dari subjek penelitian dan melihat persentase yang didapat dari hasil pemotongan pita DNA dari pemeriksaan yang dilakukan.

1. Teknik pengolahan data

a. *Editing*

Pada tahap ini, semua hasil pengukuran dikumpulkan, dan peneliti memeriksa ulang apakah data tersebut lengkap. Setelah itu, informasi disortir berdasarkan tuntutan dan spesifikasi penelitian. Untuk mengisi kekosongan atau memperbaiki kesalahan dalam data, penyuntingan dilakukan.

b. Coding

Coding adalah prosedur untuk mengkategorikan respons responden menurut jenis data penelitian yang dikumpulkan. Kode, yang terdiri dari huruf atau angka, diberikan pada setiap bagian data untuk mengidentifikasinya untuk analisis.

c. Data Entry

Proses menempatkan data yang dikumpulkan ke dalam format yang siap dianalisis, seperti perangkat lunak statistik atau Excel.

d. Data Cleaning

Proses pembersihan dan penyortiran data untuk memastikan kesesuaiannya dengan variabel penelitian serta mengecek keterkaitan antara jawaban guna menilai konsistensinya.

2. Analisis data

Pada penelitian ini, data dianalisis menggunakan metode statistik deskriptif, yang bertujuan untuk menggambarkan hasil penelitian secara sistematis dan mudah dipahami. Statistik deskriptif, atau analisis univariat, diterapkan berdasarkan jenis data, baik kategorik maupun numerik. Sebagai konsekuensi dari penyelidikan ini,

polimorfisme gen *ADIPOQ* dalam sampel darah pasien dijelaskan. Temuan ditunjukkan dalam bentuk tabel.

G. Etika Penelitian

Penerapan etika penelitian dalam penelitian ini adalah (Masturoh dan Anggita T, 2018) :

Penelitian ini dilakukan dengan menghormati hak-hak pasien sebagai subjek penelitian, dengan menerapkan prinsip-prinsip etika sebagai berikut:

1. Respect for Persons

Kebebasan, kesopanan, dan keunikan budaya dan pribadi setiap pasien dihormati oleh para peneliti. Peneliti juga menjaga kerahasiaan informasi pribadi pasien. Sebelum penelitian dimulai, penjelasan lengkap diberikan, dan persetujuan tertulis (informed consent) diperoleh dari setiap pasien.

2. Beneficence

Prinsip ini menekankan bahwa penelitian tidak boleh menimbulkan kerugian bagi pasien. Para peneliti memastikan bahwa keuntungan dari penelitian ini melebihi potensi bahaya apa pun. Untuk meminimalkan risiko dan memaksimalkan manfaat, peneliti juga merujuk pada hasil penelitian sebelumnya sebagai acuan.

3. Justice

Peneliti menerapkan prinsip keadilan dengan tidak membedakan perlakuan terhadap setiap pasien. Semua pasien akan diperlakukan secara setara, tanpa diskriminasi, baik dalam proses maupun hasil penelitian.