

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *True Experimental* dengan desain *Posttest Only Control Design*. Desain tersebut memungkinkan peneliti menilai efek perlakuan pada kelompok eksperimen dengan membandingkannya terhadap kelompok kontrol tanpa melakukan pengukuran awal. Metode *true experimental* memiliki validitas internal yang tinggi karena peneliti dapat mengendalikan seluruh faktor luar yang berpotensi memengaruhi hasil penelitian (Sugiyono, 2019).

Bentuk rancangan penelitian ini dapat dilihat pada gambar berikut.

|   | Perlakuan      | Post Test      |
|---|----------------|----------------|
|   | X <sub>1</sub> | O <sub>1</sub> |
|   | X <sub>2</sub> | O <sub>2</sub> |
|   | X <sub>3</sub> | O <sub>3</sub> |
| R | X <sub>4</sub> | O <sub>4</sub> |
|   | X <sub>5</sub> | O <sub>5</sub> |
|   | X <sub>6</sub> | O <sub>6</sub> |
|   | X <sub>7</sub> | O <sub>7</sub> |

Gambar 5. Desain Penelitian *Posttest Only Control Group Desain*

Keterangan :

R : Randomisasi penempatan objek pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol.

- X1 : Perlakuan pada kelompok eksperimen, simplisia daun belimbing wuluh dimaserasi dengan air.
- X2 : Perlakuan pada kelompok eksperimen, simplisia daun belimbing wuluh dimaserasi dengan etanol 70%.
- X3 : Perlakuan pada kelompok eksperimen, simplisia daun belimbing wuluh dimaserasi dengan n – heksana.
- X4 : Perlakuan pada kelompok kontrol negatif, pelarut air diteteskan pada cakram disk.
- X5 : Perlakuan pada kelompok kontrol negatif, pelarut etanol 70% diteteskan pada cakram disk.
- X6 : Perlakuan pada kelompok kontrol negatif, pelarut n – heksana diteteskan pada cakram disk.
- X7 : Perlakuan pada kelompok kontrol positif, digunakan cakram disk yang mengandung kloramfenikol.
- O1-O7: Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada setiap perlakuan dan kontrol.

## **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

### **1. Tempat penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi dan Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar.

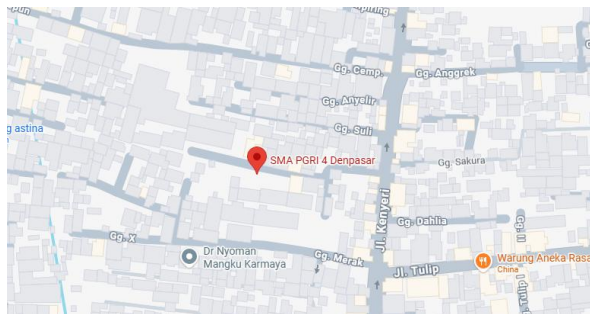
### **2. Waktu penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai bulan April 2026.

## C. Sampel Penelitian dan Unit Analisis

### 1. Sampel penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah ekstrak air, ekstrak etanol 70%, dan ekstrak n – heksana, daun belimbing wuluh yang diperoleh dari tanaman di 1 lahan yang sama di daerah Denpasar Timur Desa Sumerta Kaja. Lokasi penelitian berada pada koordinat  $8.645236^{\circ}$  LS dan  $115.229347^{\circ}$  BT.



Gambar 6. Lokasi pengambilan daun belimbing wuluh

Sumber : Google Maps

Daun belimbing wuluh yang digunakan berdasarkan kriteria inklusi yaitu daun yang berasal dari tanaman sehat, tidak terserang hama atau penyakit, berwarna hijau segar, tidak layu, serta tidak mengalami kerusakan fisik. Daun yang digunakan dipanen pada tingkat kematangan sedang, daun segar dan berwarna hijau tua yang diambil pada tangkai ke 5 dari pucuk sampai tangkai ke 10, diperoleh dari lokasi dan waktu panen yang relatif sama, serta telah melalui proses sortasi, pencucian, pengeringan, dan penyimpanan sesuai standar simplisia. Sementara itu, kriteria eksklusi meliputi daun yang mengalami kerusakan fisik, menunjukkan tanda pembusukan, perubahan warna tidak normal, atau berbau menyimpang, serta daun yang terkontaminasi jamur, serangga, atau bahan kimia berbahaya. Selain itu, daun dengan asal tanaman yang tidak jelas atau yang tidak memenuhi standar penanganan dan penyimpanan simplisia juga dikeluarkan dari sampel penelitian.

## 2. Besar sampel penelitian

Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak daun belimbing wuluh dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana pada konsentrasi stok 100% sebagai sampel dasar. Setiap ekstrak kemudian diuji pada konsentrasi 10% (b/v), yang diperoleh dengan mengencerkan ekstrak stok menggunakan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana. Pada konsentrasi 10% dibutuhkan massa ekstrak sebanyak 2,5 gram ekstrak, dan dilarutkan sebanyak 25 ml masing – masing pelarut. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan kontrol negatif berupa pelarut yang digunakan, yaitu air, etanol 70%, dan n – heksana. Jumlah pengulangan ditentukan berdasarkan jumlah variasi pelarut dan kelompok kontrol (Hanafiah, 2016).

Pada penelitian ini terdapat tiga kelompok perlakuan dan empat kelompok kontrol, sehingga total terdapat tujuh kelompok. Setiap kelompok dilakukan pengulangan yang jumlahnya ditetapkan menggunakan rumus Federer (Mushlih & Rosyidah, 2020) sebagai berikut:

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

Keterangan :

r = jumlah ulangan

t = jumlah perlakuan

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(7 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$7(r - 1) \geq 15$$

$$7r - 7 \geq 15$$

$$7r \geq 22$$

$$r \geq 3,142$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, pengulangan dalam penelitian ini dilakukan minimal 4 kali, sehingga diperoleh total pemeriksaan sebanyak 28 sampel.

### **3. Teknik pengambilan sampel**

Metode pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan *purposive sampling*, yaitu teknik pemilihan sampel berdasarkan kriteria atau pertimbangan khusus yang telah ditetapkan oleh peneliti.

### **4. Unit analisis**

Unit analisis dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada ekstrak air, etanol 70%, dan n – heksana daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 10%. Konsentrasi dan jenis pelarut ini dipilih untuk mengetahui pelarut yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kelompok kontrol yang digunakan adalah kontrol negatif (air, etanol 70%, dan n - heksana), sedangkan kontrol positif menggunakan cakram antibiotik kloramfenikol.

## **D. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Blender, tabung vial, tempayan, neraca analitik, pipet ukur 1 ml dan 10 ml, mikropipet 20 µl – 1000 µl, ball pipet, gelas ukur 250 ml, labu ukur 50 ml, evaporator, beaker glass 500 ml dan 1000 ml, erlenmeyer 250 ml dan 500 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, ose, hotplate, magnetic stirrer, petridish steril, biosafety cabinet, jangka sorong, inkubator, oven, dan autoclave.

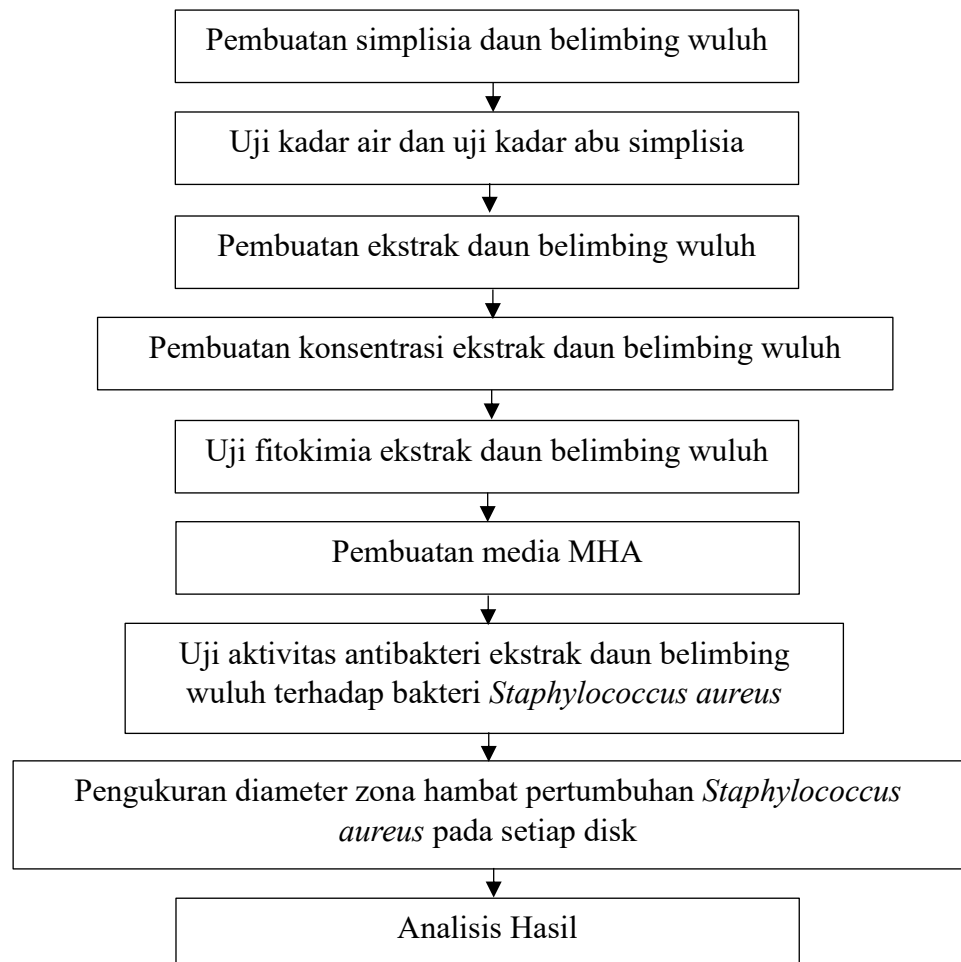
## 2. Bahan

Daun belimbing wuluh 6,3 kg, aquadest steril 4000 ml, bakteri *Staphylococcus aureus*, media MHA, standar Mc Farland 0,5%, NaCl fisiologis 0,9%, cakram kosong, cakram antibiotik kloramfenikol, kertas saring, lidi kapas steril, etanol 70% teknis (3000 ml), n – heksana teknis (3000 ml), aluminium foil, dan kapas berlemak.

## E. Alur Kerja dan Prosedur Kerja

### 1. Alur kerja

Adapun alur kerja pada penelitian ini yaitu sebagai berikut.



Gambar 7. Alur Kerja Penelitian

Keterangan gambar :

Daun belimbing wuluh yang digunakan dipilih berdasarkan kriteria inklusi yang sudah ditetapkan. Proses pembuatan simplisia dilakukan dengan mengeringkan daun secara diangin – anginkan tanpa terkena matahari langsung, kemudian digiling hingga halus. Ekstraksi daun belimbing wuluh dilakukan melalui metode maserasi dan dilanjutkan dengan evaporasi. Simplisia dimaserasi menggunakan tiga jenis pelarut berbeda, yaitu air, etanol 70%, dan n – heksana. Ekstrak yang diperoleh kemudian diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 10% menggunakan masing-masing pelarut tersebut.

Setiap konsentrasi ekstrak selanjutnya dijenuhkan pada cakram disk kosong. Pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana juga dijenuhkan pada disk kosong sebagai kontrol negatif, sedangkan disk berisi kloramfenikol disiapkan sebagai kontrol positif. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan tingkat kekeruhan setara standar McFarland 0,5 ( $\approx 1,5 \times 10^8$  sel bakteri) kemudian diinokulasikan secara merata pada media Mueller Hinton Agar.

Cakram yang telah dijenuhkan dengan ekstrak dan kontrol ditempatkan pada permukaan media dengan jarak antar disk minimal 15 mm, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing disk diukur menggunakan jangka sorong dan hasilnya dianalisis secara statistik dengan bantuan perangkat lunak komputer.

## **2. Prosedur kerja**

### **a. Pembuatan simplisia daun belimbing wuluh**

Pembuatan simplisia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dimulai dengan mengambil daun belimbing wuluh 6300 g dengan kriteria daun segar dan

berwarna hijau tua yang diambil pada tangkai ke 5 dari pucuk sampai tangkai ke 10. Kemudian disortasi basah dan dicuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya dirajang dan dikeringkan secara tidak langsung di bawah sinar matahari sampai kadar air menyusut  $<30\%$  kemudian dilanjutkan pengeringan pada oven bersuhu  $60^{\circ}\text{C}$  hingga kadar air menyusut hingga  $<10\%$ . Daun yang sudah kering disortasi kering dan diblender sampai halus hingga menjadi serbuk (Tuntun, 2016). Serbuk simplisia disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapi.

b. Uji kadar air dan uji kadar abu simplisia

Pengujian kadar air pada serbuk simplisia daun belimbing wuluh dilakukan dengan menimbang sekitar 10 gram serbuk ke dalam wadah yang sebelumnya telah ditara. Sampel kemudian dikeringkan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 5 jam, setelah itu ditimbang kembali. Nilai kadar air simplisia ditetapkan tidak melebihi  $10\%$  (Handayani, 2020).

Uji kadar abu merupakan bagian dari penetapan parameter mutu simplisia yang bertujuan untuk memastikan bahwa bahan telah mengalami pengeringan sempurna. Uji kadar abu total dilakukan dengan memijarkan cawan porselen kosong di dalam tanur pada suhu  $\pm 600^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Sebanyak 2–3 gram simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan, lalu dipijarkan perlahan hingga tidak berasap. Selanjutnya sampel dipanaskan dalam tanur pada suhu  $600^{\circ}\text{C}$  selama 3–5 jam hingga terbentuk abu berwarna putih keabu-abuan. Cawan kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu dihitung berdasarkan perbandingan berat abu terhadap berat sampel awal (Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, 2022).

c. Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh

Sebanyak 300 g simplisia dimaserasi menggunakan masing – masing pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana (masing-masing dalam beaker glass berbeda) sampai simplisia terendam seluruhnya kira – kira 2-3 cm diatas permukaan simplisia. Gelas beaker ditutup dengan aluminium foil dan dipastikan wadah terlindung dari sinar matahari. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dengan proses remaserasi 1 kali dan dilakukan pengadukan setiap hari, filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator (suhu 40–60°C) hingga didapatkan ekstrak kental (100%), kemudian tentukan bobot ekstrak kental dengan menimbang hasil tersebut dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

d. Pembuatan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh

Pembuatan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh menggunakan presentase perbandingan %b/v, melalui rumus berikut :

$$\% = \frac{b}{v} \times 100\%$$

Keterangan :

% : variasi konsentrasi dalam satuan persen

b : massa ekstrak daun belimbing wuluh (100%)

v : volume pengenceran

Adapun jumlah ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 100% yang diperlukan yaitu :

Tabel 3.

Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

| Konsentrasi         | Massa Ekstrak (100%) | Volume Pengencer                            |
|---------------------|----------------------|---------------------------------------------|
| Pelarut air         |                      |                                             |
| Konsentrasi 10%     | 2,5 gram             | Ditambahkan air hingga volume 25 ml         |
| Pelarut etanol 70%  |                      |                                             |
| Konsentrasi 10%     | 2,5 gram             | Ditambahkan etanol 70% hingga volume 25 ml  |
| Pelarut n – heksana |                      |                                             |
| Konsentrasi 10%     | 2,5 gram             | Ditambahkan n – heksana hingga volume 25 ml |

e. Uji fitokimia

Dilakukan uji kualitatif untuk mendeteksi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin menggunakan reagen spesifik.

Tabel 4.

Tahapan Uji Fitokimia

| Uji Senyawa | Tahapan                                                         | Indikator Positif                               |
|-------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 1           | 2                                                               | 3                                               |
| Alkaloid    | 2 ml ekstrak yang diencerkan + 2 ml <i>Dragendorff reagents</i> | Terbentuk endapan jingga atau cokelat kemerahan |
| Flavonoid   | 1 ml ekstrak yang sudah diencerkan + 1 ml konsentrat $H_2SO_4$  | Terbentuk warna merah, jingga, atau kuning      |

| 1                                 | 2                                                                                                                                | 3                                                      |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| Tanin                             | 1 ml ekstrak yang sudah diencerkan + 3 ml air suling + 3 tetes FeCl <sub>3</sub> 10%                                             | Terbentuk warna hijau kehitaman atau biru kehitaman    |
| Terpenoid                         | 2 ml kloroform + 5 ml ekstrak (uapkan pada waterbath) + 3 ml konsentrat H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (panaskan pada waterbath) | Terbentuk warna merah kecokelatan pada lapisan larutan |
| Saponin                           | 2 ml ekstrak + 5 ml air suling (kocok dengan kencang dan panaskan pada waterbath)                                                | Terbentuk busa stabil yang bertahan ±10 menit          |
| Sumber : (Shaikh dan Patil, 2020) |                                                                                                                                  |                                                        |

f. Pembuatan media MHA

- 1) Bubuk media Mueller Hinton Agar (MHA) ditimbang sebanyak 15 gram menggunakan neraca analitik dan setelah proses penimbangan bubuk media dipindahkan kedalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan akuadest sebanyak 380 ml (etiket media 38,0 g medium disuspensikan ke dalam satu liter aquadest)
- 2) Medium dipanaskan selama satu menit pada hotplate sambil diaduk sampai serbuk benar-benar larut dan tercampur dengan sempurna
- 3) Setelah bubuk media larut sempurna dan homogen, diukur pH media dengan menggunakan pH stik (pH optimal  $7,3 \pm 0,1$  pada suhu 25°C)
- 4) Erlenmeyer ditutup dengan kapas berlemak dan aluminium foil
- 5) Media disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit dihitung dari tercapainya suhu 121 °C
- 6) Media yang telah disterilisasi, didiamkan sampai suhu media turun menjadi  $\pm 40 - 50$  °C.

- 7) Tuangkan ke dalam cawan petri masing-masing plate sebanyak sebanyak 25 ml, kemudian didiamkan hingga memadat
- 8) Setelah media memadat, cawan petri dibalik, dan apabila tidak langsung digunakan media yang sudah dituangkan pada cawan petri atau sisa media dalam tabung erlenmeyer dapat dibungkus dengan kertas buram dan disimpan didalam refrigerator.

g. Pembuatan suspensi bakteri

- 1) Diambil koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dari biakan murni dan disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 3 ml larutan NaCl fisiologis 0,9%.
- 2) Suspensi dibandingkan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5%.

h. Uji aktivitas antibakteri (Anggraini dkk, 2019)

- 1) Menyiapkan sampel ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 10% dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana.
- 2) Diambil sampel suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kepekatan 0,5 Mc Farland dan streak atau goreskan pada cawan petri secara zigzag vertikal lalu diamkan selama 5 menit
- 3) Paper disk diameter 6 mm ditetaskan 20µl masing-masing konsentrasi dan diamkan hingga seluruh cairan meresap ke dalam cakram disk
- 4) Masing-masing cakram disk yang telah jenuh dengan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh kemudian ditempelkan pada perbumaan media MHA yang telah digoreskan suspensi bakteri dan dipastikan melekat sempurna
- 5) Kontrol positif dan negatif ditempelkan pada media MHA
- 6) Dilakukan inkubasi pada media selama 24 jam dengan posisi terbalik pada suhu 37 °C dan media dibungkus dengan kertas buram

7) Setelah diinkubasi, zona bening yang timbul disekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong

i. Pengukuran dan pelaporan hasil

Zona hambat yang terbentuk diukur diameternya dengan jangka sorong dan hasil dilaporkan dalam mm.

## **F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data**

### **1. Jenis data**

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari data primer dan data sekunder. Menurut Sugiyono (2019), data primer adalah data yang dikumpulkan langsung oleh peneliti melalui observasi. Pada penelitian ini, data primer berupa hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada berbagai pelarut ekstrak daun belimbing wuluh dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana. Sementara itu, data sekunder diperoleh dari artikel, jurnal, buku, serta sumber literatur lain yang mendukung penelitian.

### **2. Teknik pengumpulan data**

Metode pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan melalui observasi. Pengukuran difokuskan pada diameter zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang terbentuk dari berbagai pelarut ekstrak daun belimbing wuluh dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana. Nilai diameter zona hambat yang diperoleh kemudian menjadi indikator aktivitas antibakteri, yang dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

## **G. Pengolahan dan Analisis**

### **1. Teknik pengolahan data**

Data mengenai diameter zona hambat yang dihasilkan dari pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana pada konsentrasi 10% terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* diperoleh dalam satuan milimeter (mm). Data tersebut kemudian diolah menggunakan metode pengolahan data secara tabulasi dan disajikan secara naratif.

### **2. Analisis data**

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif dengan bantuan perangkat lunak statistik. Tahapan analisis dilakukan sebagai berikut:

#### **1) Uji normalitas data**

Uji Shapiro-Wilk digunakan untuk menilai apakah data berdistribusi normal, karena metode ini sesuai untuk jumlah sampel yang kurang dari 50 sampel.

#### **2) Uji homogenitas**

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah varians data antar kelompok perlakuan bersifat sama (homogen) atau tidak. Uji ini menggunakan *Levene's Test*.

#### **3) Uji perbedaan (Uji beda)**

Jika data berdistribusi normal, maka digunakan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* secara in vitro pada berbagai ekstrak daun belimbing wuluh dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana. Jika data tidak berdistribusi normal, maka digunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan tersebut.

#### 4) Uji hipotesis statistik

Untuk menguji perbedaan diameter zona hambat, maka hipotesis statistik penelitian adalah sebagai berikut:

H<sub>0</sub> : Tidak terdapat perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

H<sub>a</sub> : Ada perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan hipotesis H<sub>a</sub> dan H<sub>0</sub> serta uji statistik maka akan diambil keputusan H<sub>a</sub> diterima, H<sub>0</sub> ditolak jika  $p\text{-value} \leq 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Namun, jika  $p\text{-value} \geq 0,05$ , maka H<sub>0</sub> diterima dan H<sub>a</sub> ditolak yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan pelarut air, etanol 70%, dan n – heksana terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### 5) Uji lanjutan (*Post Hoc*)

Uji post hoc dilakukan apabila hasil analisis menunjukkan bahwa hipotesis nol ditolak. Jika data berdistribusi normal, digunakan uji Tukey untuk mengidentifikasi kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Namun apabila data tidak berdistribusi normal uji lanjutan dilakukan menggunakan uji Mann–Whitney untuk mengetahui pasangan kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan signifikan terhadap diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

## **H. Etika Penelitian**

Penerapan etika penelitian kesehatan dalam penelitian ini mengacu pada prinsip etika penelitian sebagaimana dikemukakan oleh Sugiyono dan Puspandini (2020). Penelitian ini dilaksanakan dengan memperhatikan prinsip *beneficence*, yaitu memberikan manfaat dan meminimalkan kemungkinan risiko atau kerugian, serta prinsip *non-maleficence*, yaitu tidak menimbulkan dampak yang merugikan dan memberikan perlindungan terhadap potensi penyalahgunaan selama proses penelitian berlangsung.