

Optimasi dan Validasi Metode HPLC untuk Penetapan Kadar Niacinamide pada Dada Daging Ayam Broiler

Optimization and Validation of HPLC Method for Determination of Niacinamide Levels in broiler Chicken Breast Meat

Novriyanti Lubis¹, Riva Hairunnisa¹, Nugraha Raihan², Intan Putri Andryan², Kansy Haikal¹, Belya Anindia Hermawan^{1*}

¹Farmasi, Fakultas Matematika dan Sains, Universitas Garut, Indonesia

²Laboratorium Sentral, Universitas Padjajaran, Indonesia

*E-mail Korespondensi: belya@uniga.ac.id

ABSTRAK

Niacinamide adalah turunan vitamin B3 yang berperan penting dalam kesehatan kulit dan dapat diperoleh dari daging ayam. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan niacinamide dalam daging ayam broiler mentah dan rebus menggunakan Kromatografi Cair Berperforma Tinggi (HPLC). Analisis dilakukan menggunakan kolom C18, fase gerak isokratik asam fosfat:metanol (90:10), laju aliran 0,30 mL/menit, dan deteksi pada 260 nm. Metode ini divalidasi dengan linearitas ($r=0,99$), presisi (RSD 0,8%), akurasi (recovery 110%), batas deteksi (LoD) 0,0066 ppm, dan batas kuantifikasi (LoQ) 0,0223 ppm. Hasil menunjukkan bahwa kandungan niacinamide dalam daging mentah adalah 8,9 mg/100 g dan dalam daging rebus adalah 6,5 mg/100 g. Perebusan hanya sedikit mengurangi kandungan tersebut, menunjukkan bahwa daging ayam berpotensi menjadi sumber alami niacinamide.

Kata kunci:

daging ayam broiler, HPLC, niacinamide

ABSTRACT

Niacinamide is a derivative of vitamin B3 that plays an important role in skin health and can be obtained from chicken meat. This study aims to determine the niacinamide content in raw and boiled broiler chicken meat using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The analysis was performed using a C18 column, isocratic mobile phase of phosphoric acid: methanol (90:10), flow rate of 0.30 mL/minute, and detection at 260 nm. This method was validated with linearity ($r=0.99$), precision (RSD 0.8%), accuracy (recovery 110%), limit of detection (LoD) 0.0066 ppm, and limit of quantification (LoQ) 0.0223 ppm. The results showed that the niacinamide content in raw meat was 8.9 mg/100 g and in boiled meat was 6.5 mg/100 g. Boiling only slightly reduced the content, indicating that chicken meat has the potential to be a natural source of niacinamide.

ARTICLE INFO

Article History:

Submitted/Received (4 Sep 2025)

First Revised (19 Feb 2026)

Accepted (1 Mar 2026)

First Available online (9 Mar 2026)

Publication Date (9 Mar 2026)

Keyword:

broiler chicken meat, HPLC, niacinamide

1. PENDAHULUAN

Niacinamide (*nicotinamide*) merupakan bentuk amida dari vitamin B3 yang berperan sebagai prekursor koenzim nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) dan NAD phosphate (NADP⁺), yang esensial dalam metabolisme energi, regulasi redoks, serta mekanisme perbaikan seluler (Esposito et al., 2024). Selain fungsi fisiologisnya, niacinamide juga dikenal memiliki aktivitas biologis yang signifikan, termasuk meningkatkan fungsi barrier kulit, elastisitas, serta memiliki sifat antiinflamasi, sehingga banyak diaplikasikan dalam bidang nutrisi dan dermatologi (Hunt et al., 2023).

Niacinamide dapat diperoleh baik dari sumber sintetik maupun bahan pangan alami. Berbagai produk pangan hewani dan nabati dilaporkan menggunakan vitamin B kompleks, termasuk niasin dan niacinamide (Çatak, 2019). Daging ayam, khususnya bagian dada, merupakan salah satu sumber potensial vitamin B3 karena kandungan proteinnya yang tinggi serta konsumsi masyarakat yang luas. Produksi ayam broiler di Indonesia juga mengalami peningkatan signifikan dalam beberapa tahun terakhir, sehingga berpotensi menjadi sumber nutrisi fungsional yang mudah diakses (Lestari et al., 2023).

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kandungan niacinamide dalam daging ayam dipengaruhi oleh bagian jaringan serta metode pengolahan (Çatak, 2019) melaporkan kandungan niacinamide pada dada ayam sebanyak 5,442 mg/100 g, sementara penelitian lanjutan menunjukkan bahwa proses pemasakan dapat menurunkan kadar vitamin B3 akibat sifatnya yang larut dalam air dan kurang stabil terhadap panas (Catak, 2022) melaporkan bahwa perebusan menyebabkan kehilangan niacinamide sekitar 19,8% dibandingkan kondisi mentah. Penurunan ini dipengaruhi oleh degradasi termal dan pengendalian senyawa ke dalam media air selama pemanasan (Hrubša et al., 2022)

Analisis niacinamide dalam matriks biologis umumnya dilakukan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi atau HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) karena memiliki sensitivitas dan selektivitas yang tinggi (Angraini & Desmaniar., 2020). HPLC telah banyak digunakan untuk analisis vitamin B3 dalam produk pangan, termasuk daging dan produk olahannya (Hiki et al., 2016, Rezk et al., 2020). Namun, kompleksitas matriks daging ayam menuntut optimasi kondisi kromatografi serta validasi metode yang ketat guna menjamin akurasi, presisi, dan keandalan hasil analisis (Suprianto, 2018, Ayuningtyas et al., 2021).

Meskipun keberadaan niacinamide pada daging ayam telah dilaporkan, hingga saat ini masih terbatas penelitian yang mengkaji penetapan kadar niacinamide pada dada ayam broiler lokal Indonesia menggunakan metode HPLC yang tervalidasi secara komprehensif, khususnya dalam membandingkan kondisi mentah dan rebus. Selain itu, data kuantitatif mengenai kehilangan niacinamide akibat perebusan pada sampel ayam broiler lokal masih relatif sedikit.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi dan memvalidasi metode HPLC dalam penetapan kadar niacinamide serta mengevaluasi pengaruh proses perebusan terhadap kandungan niacinamide pada dada ayam broiler. Kebaruan penelitian ini terletak pada penerapan metode HPLC yang tervalidasi untuk analisis niacinamide pada dada ayam broiler lokal Indonesia serta evaluasi kuantitatif kehilangan niacinamide akibat perebusan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan pangan fungsional berbasis sumber hewani serta menjadi dasar bagi strategi pengolahan yang mempertahankan kandungan niacinamide.

2. METODOLOGI

Sampel dada ayam broiler mentah ditimbang 10 g dan dimasukkan ke dalam gelas beker 100 mL. Sebanyak 10 mL larutan asam metafosfat 4% ditambahkan, kemudian diikuti dengan penambahan 30 mL asam metafosfat 2%. Campuran dihomogenkan selama 10 menit, kemudian volume disesuaikan hingga 50 mL dengan larutan asam metafosfat 2%. Larutan disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan sebanyak 5 mL diambil dan dimurnikan menggunakan cartridge SPE C18 yang telah dikondisikan dengan 3 mL metanol dan 2 mL air pro injeksi. Eluat disaring menggunakan syringe filter 0,45 µm, dievaporasi, kemudian dilarutkan kembali dengan 5 mL air pro injeksi lalu injeksikan ke HPLC. Untuk sampel ayam rebus, dada ayam direbus dalam air mendidih 100 °C selama 10 menit, kemudian didinginkan hingga suhu ruangan sebelum melalui preparasi yang seperti sampel mentah (Hiki *et al.*, 2016).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Optimasi Kondisi HPLC

Optimasi metode HPLC dilakukan untuk memperoleh pemisahan niacinamide yang optimal dari matriks daging ayam broiler. Kondisi terbaik diperoleh menggunakan kolom C18 dengan fase gerak isokratik asam fosfat : methanol (90 : 10), laju alir 0,30 mL/menit, volume unjeksi 10 µL, dan deteksi UV pada panjang gelombang 260 nm. Pada kondisi tersebut, niacinamide terelusi pada waktu 6,6 menit dengan bentuk puncak yang simetris dan resolusi yang memadai.

Optimasi ini menghasilkan kromatogram dengan baseline yang stabil serta puncak analit yang dominan, sehingga memungkinkan analisis kuantitatif yang handal. Hasil ini sejalan dengan Kamelia Saleh, (2019) yang mengatakan bahwa pemilihan fase gerak dan laju air sangat memengaruhi efisiensi pemisahan serta karakteristik puncak kromatogram seperti yang disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Optimasi Metode

No.	Parameter	Hasil
1.	Kolom	Kolom C18
2.	Suhu	23,9°C
3.	Laju alir	0,30 mL/menit
4.	Fase gerak	Asam fosfat:metanol 90:10
5.	Volume injeksi	10µL
6.	Detektor	UV 260 nm

3.2 Validasi Metode

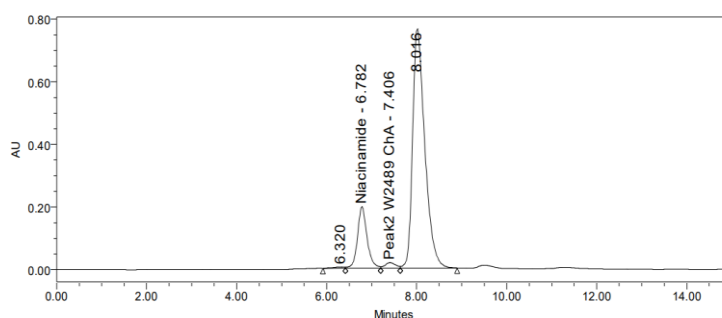
Metode yang dikembangkan menunjukkan linieritas yang baik dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,99, yang mengindikasikan hubungan linear yang kuat antara konsentrasi niacinamide dan repon detektor. Presisi metode dinyatakan dalam nilai *relative standar deviation* (RSD) sebesar 0,8% yang memenuhi kriteria dengan syarat (<2%) sebagaimana dilaporkan oleh (Ayuningtyas *et al.*, 2021). Akurasi metode ditunjukkan oleh nilai *recovery* sebesar 110%, yang masih berada dalam rentan yang dapat diterima untuk analisis senyawa pada konsentrasi rendah (Rezk *et al.*, 2020). Nilai batas deteksi (*Limit Of Deteksi* LoD) sebesar 0,0066 ppm dan batas kuantifikasi (*Limit Of Quantifikasi* LoQ) sebesar 0,0223 ppm menunjukkan sensitivitas metode yang tinggi. Parameter validasi ini mengindikasikan bahwa

metode HPLC yang digunakan memiliki akurasi, presisi, dan sensitivitas yang memadai untuk penetapan niacinamide dalam matriks daging ayam yang kompleks (Suprianto, 2018).

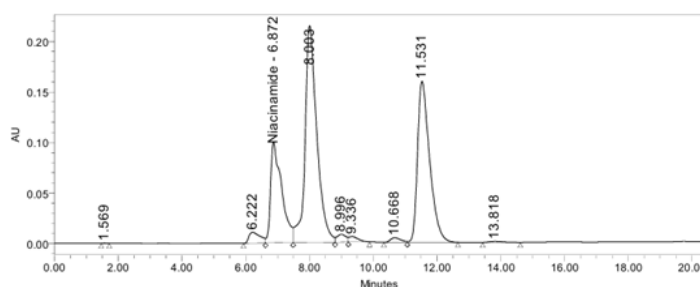
3.3 Karakterisasi Kromatogram Niacinamide pada Sampel

Kromatogram sampel dada ayam mentah menunjukkan puncak niacinamide yang lebih tajam dan bersih dibandingkan sampel rebus. Penggunaan SPE C18 pada sampel mentah mengakibatkan hasil yang meningkatkan co-eluting peaks dan noise baseline. Hal ini bisa terjadi karena terikutnya senyawa yang terelusi dari senyawa semi polar dan polar dari matriks daging yang kompleks, sehingga menurunkan kejernihan kromatogram (Faraji et al., 2019).

Niacinamide yang bersifat sangat polar lebih mudah terekstraksi langsung menggunakan larutan asam metafosfat tanpa SPE, sehingga menghasilkan kromatogram yang lebih sederhana dan puncak yang lebih spesifik. Temuan ini menunjukkan bahwa pada matriks dada ayam mentah, preparasi tanpa SPE lebih efektif untuk memperoleh profil kromatogram niacinamide yang optimal. Sebaliknya, pada sampel ayam rebus, penggunaan SPE C18 meningkatkan kejernihan kromatogram dengan mengurangi interferensi komponen non-target. Hal ini sejalan dengan (Hwang & Song, 2020) yang melaporkan bahwa proses pemurnian seperti SPE dapat meningkatkan resolusi kromatogram dengan mengurangi gangguan matriks yang dapat dilihat pada **Gambar 1** dan **2**, **Tabel 3** dan **4**, **Gambar 3** dan **4**, serta **Tabel 5** dan **6**.



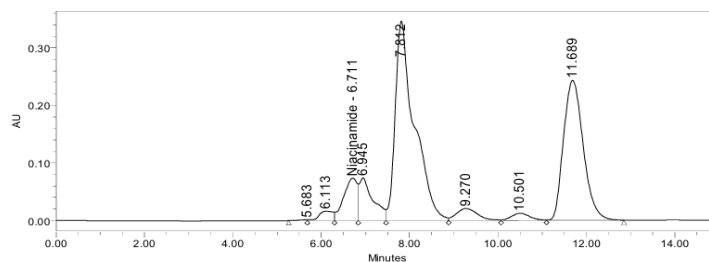
Gambar 1. Kromatogram Sampel Ayam Mentah Tanpa SPE



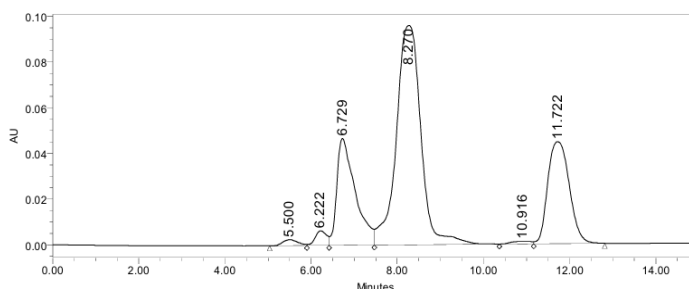
Gambar 2. Kromatogram Sampel Ayam Mentah Dengan SPE

Tabel 3. Hasil pengukuran sampel ayam mentah tanpa SPE

Replika	RT (Menit)	Peak Area	% Peak area	Height
1	6.782	2882808	16.35	196716
2	6.747	2846768	16.19	189839
3	6.729	2851823	16.21	184069



Gambar 3. Kromatogram Ayam Rebus Tanpa SPE



Gambar 4. Kromatogram Ayam Rebus Dengan SPE

Tabel 4. Hasil pengukuran sampel ayam rebus dengan SPE

Replika	RT (Menit)	Peak Area	% Peak area	Height
1	6,729	1388071	19.97	46810
2	6.589	1337795	18.59	45682
3	6.578	1469313	20.52	46584

3.4 Pengaruh Perebusan terhadap Kadar Niacinamide

Rata-rata kadar niacinamide pada dada ayam broiler mentah sebesar 8,9 mg/100 g, sedangkan setelah perebusan menurun menjadi 6,5 mg/100 g, menunjukkan kehilangan sekitar 26% penurunan ini relative sejalan dengan hasil penelitian [Çatak, \(2019\)](#) yang melaporkan kandungan niacinamide pada dada ayam sekitar 5,442 mg/100 g, serta melaporkan kehilangan niacinamide sekitar 19,8% akibat proses perebusan.

Penurunan kadar niacinamide terutama disebabkan oleh sifatnya yang mudah larut dalam air serta ketidakstabilannya terhadap pemanasan. Proses perebusan memungkinkan terjadinya penurunan niacinamide dan menyebabkan degradasi parsial akibat suhu yang tinggi ([Hrubša et al., 2022](#)). Selain itu, interaksi niacinamide dengan protein dan lipid selama pemanasan dapat menghasilkan produk degradasi atau senyawa turunan, yang berkontribusi terhadap penurunan kadar terukur ([Campbell et al., 2019](#)). Hasil ini menegaskan bahwa metode pengolahan pangan berperan penting dalam mempertahankan kandungan niacinamide, karena stabilitas vitamin B3 dipengaruhi oleh suhu, waktu pemanasan, pH, serta komposisi matriks pangan ([Hunt et al., 2023](#)) yang dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Kandungan niacinamide pada dada ayam broiler

Replika	Mentah	Rebus
	mg/100 g	mg/100 g
1	9	6,5
2	8,9	6,3
3	8,9	6,9
Rata-rata	8,9	6,5

4. KESIMPULAN

Metode HPLC yang dikembangkan dalam penelitian ini menunjukkan performa analitik yang baik dengan memenuhi seluruh parameter validasi, meliputi linieritas ($r = 0,99$), presisi (RSD 0,8%) akurasi (*recovery* 110%), serta sensitivitas tinggi yang ditunjukkan oleh nilai LoD 0,0066 ppm dan LoQ 0,0223 ppm. Hasil ini menegaskan bahwa metode tersebut layak digunakan untuk penetapan kadar niacinamide dalam matriks daging ayam broiler yang kompleks.

Dada ayam broiler mentah mengandung niacinamide sebesar 8,9/100 g, yang menurun menjadi 6,5 mg/100 g setelah perebusan, menunjukkan kehilangan sekitar 26%. Temuan ini mengonfirmasi bahwa proses perebusan berdampak signifikan terhadap stabilitas niacinamide akibat sifatnya yang larut air dan kurang stabil secara termal. Kebaruan penelitian ini terletak pada penerapan metode HPLC yang tervalidasi untuk analisis niacinamide akibat perebusan. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dada ayam broiler berpotensi sebagai sumber alami niacinamide, namun strategi pengolahan yang tepat diperlukan untuk mempertahankan kandungannya. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengevaluasi metode pengolahan alternatif serta melakukan analisis statistik yang lebih mendalam guna memperkuat temuan ini.

5. CATATAN PENULIS

Para penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan terkait penerbitan artikel ini. Penulis menegaskan bahwa artikel ini bebas dari plagiarisme.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Angraini, N., & Desmaniar, P. (2020). Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk analisis asam askorbat guna menunjang kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan. In *Jurnal Penelitian Sains* (Vol. 22, Issue 2).
- Ayuningtyas, R., Primaharinastiti, R., Yuwono, M., Besar, B., Obat, P., & Makanan, D. (2021). Optimasi dan Validasi Metode KCKT untuk Identifikasi dan Penetapan Kadar Metabolit Nitrofurantoin dalam Bakso Udang. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 117.
- Campbell, M. T. D., Jones, D. S., Andrews, G. P., & Li, S. (2019). Understanding the physicochemical properties and degradation kinetics of nicotinamide riboside, a promising vitamin B3 nutritional supplement. *Food and Nutrition Research*, 63.
- Çatak, J. (2019). Determination of niacin profiles in some animal and plant based foods by high performance liquid chromatography: Association with healthy nutrition. *Journal of Animal Science and Technology*, 61(3), 138–146.

- Catak, J. (2022). Haşlama ve Kızartma Yöntemleri Uygulanan Tavuk Etlerindeki Vitamin B1, B2 ve B3 Pişirme Kayıplarının Belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(3), 1569–1576.
- Esposito, L., Mascini, M., Silveri, F., Pepe, A., Mastrocola, D., & Martuscelli, M. (2024). A machine learning approach to uncover nicotinamide and other antioxidants as novel markers for chicken meat quality assessment. *Food Bioscience*, 58.
- Faraji, m., yamini, y., & gholami, m. (2019). Recent Advances And Trends In Application Of Solid-Phase Extraction Techniques in Food and Environmental Analysis. *Chmatographia*, 82, 1207–1249.
- Hiki, A., Yamajima, Y., & Uematsu, Y. (2016.). Improvement of Nicotinic Acid and Nicotinamide Analysis in Meats and Meat Products by HPLC and LC-MS/MS with Solid-Phase Extraction. *National Library of Medicine* (Vol. 57, Issue 4).
- Hrubša, M., Siatka, T., Nejmanová, I., Vopršalová, M., Krčmová, L. K., Matoušová, K., Javorská, L., Macáková, K., Mercolini, L., Remião, F., Mát'uš, M., & Mladěnka, P. (2022). Biological Properties of Vitamins of the B-Complex, Part 1: Vitamins B1, B2, B3, and B5. *In Nutrients* (Vol. 14, Issue 3). MDPI.
- Hunt, S. V., Jamison, A., & Malhotra, R. (2023). Oral nicotinamide for non-melanoma skin cancers: A review. *In Eye (Basingstoke)* (Vol. 37, Issue 5, pp. 823–829). *Springer Nature*.
- Hwang, E. S., & Song, S. B. (2020). Possible adverse effects of high-dose nicotinamide: Mechanisms and safety assessment. *Biomolecules*, 10(5).
- Kamelia Saleh, E. (2019). Karakterisasi Puncak Kromatogram Dalam High Performance Liquid Chromatography (Hplc) Terhadap Perbedaan Fase Gerak, Laju Alir, Dan Penambahan Asam Dalam Analisis Indole Acetic Acid (IAA)., *Jurnal Kandaga* 1(2).
- Lestari, P., Sumarauw, J., Lestari, P., Sumarauw, J. S., & Ekonomi dan Bisnis Jurusan Manajemen, F. (2023). Analisis Manajemen Peternakan Ayam Broiler Terhadap Kinerjaisaha Peternak Pada Pt. Anugerah Kartika Agro Cabang Manado. *Jurnal EMBA : Jurnal Riset Ekonomi, Manajemen, Bisnis dan Akuntansi* 11(4), 1435–1444.
- Prananda, F., Kurnia, D., Jiyanto, D., Program, M., Peternakan, S., Pertanian, F., Kunci, K., Pertumbuhan, L., Badan, B., & Konsumsi, P. (2021). Pertumbuhan Bobot Badan Ayam Breeding Strain Cobb 500 Di Pt. Charoen Pokphand Jaya Farm 2 Pekanbaru. *In Journal of Animal Center (JAC)* (Vol. 3, Issue 2).
- Rezk, M. R., Essam, H. M., Amer, E. A., & Youssif, D. M. S. (2020). Chromatographic methods for the determination of aminexil, pyridoxine, and niacinamide in a novel cosmetic hair preparation. *Journal of AOAC International*, 103(4), 1167–1172.
- Suprianto, S. (2018). *Parameter Optimasi dan Validasi Metode Ultra-Fast Liquid Chromatography*. Open Science Framework. <https://doi.org/10.31219/osf.io/kt65f>