Aplikasi Peptida untuk Meningkatkan Kesehatan dan Produktivitas Ternak **(Application of Peptide for Improving Animal Health and Livestock Productivity)**

Eni Kusumaningtyas

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata No. 30, Bogor 16114
enikusuma@yahoo.com

(Diterima 2 Januari 2018 – Direvisi 22 Mei 2018 – Disetujui 5 Juni 2018)

ABSTRACT

The use of antibiotics as growth promoter has been banned in Indonesia. One potential alternative antibiotic is peptide compounds. Peptides composed of several amino acid monomers that bind through peptide or amide bonds. Peptides are found in natural or synthetic forms that can be used to improve animal health and livestock productivity. This paper discusses the application of peptides in animal health and livestock productivity and the possibility of their utilization in Indonesia. Antimicrobial peptides are used to overcome bacterial infections, especially that are resistant to antibiotics and to preserve semen. Peptide vaccine can be used to replace conventional vaccines, especially for malignant viruses such as foot and mouth disease virus (FMD). Other peptides are used for infectious diseases and diabetes diagnostic tool in animals, medical treatment and animal reproduction system. Some peptides can be isolated from venom and have several benefits as an alternative fiber sutures for surgery and pain relief. Peptide-based drugs are metabolized faster than other small molecules, therefore, reducing the risk of contamination in livestock products.

Key words: Peptide, animal health, livestock production

ABSTRAK

Penggunaan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan sudah dilarang di Indonesia. Salah satu alternatif antibiotik yang potensial adalah senyawa peptida. Peptida adalah senyawa yang tersusun dari beberapa monomer asam amino yang saling berikatan melalui ikatan peptida atau amida. Peptida terdapat dalam bentuk alami atau sintetik yang dapat digunakan untuk meningkatkan kesehatan dan produktivitas ternak. Makalah ini membahas aplikasi peptida di bidang kesehatan dan produktivitas ternak dan kemungkinan pemanfaatannya di Indonesia. Peptida antimikroba digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri terutama yang resisten terhadap antibiotik dan digunakan dalam penyimpanan semen pada inseminasi buatan. Vaksin peptida dapat digunakan untuk mengganti vaksin konvensional terutama untuk virus yang sangat ganas seperti virus penyakit mulut dan kuku (PMK). Peptida lain digunakan sebagai perangkat diagnosis penyakit infeksius dan diabetes pada hewan, pengobatan dan sistem reproduksi ternak. Beberapa peptida dapat diisolasi dari bisa hewan dan memiliki beberapa manfaat sebagai pengganti serat jahitan pada pembedahan dan pereda nyeri. Obat berbasis peptida dimetabolisme lebih cepat jika dibandingkan dengan molekul-molekul kecil lainnya, sehingga mengurangi risiko kontaminasi pada produk ternak.

Kata kunci: Peptida, kesehatan hewan, produksi ternak

PENDAHULUAN

Pemakaian dosis subterapi antibiotik dalam pakan ternak untuk pencegahan penyakit dan peningkatan performans produksi biasa digunakan dalam peternakan modern (Cheng et al. 2014). Antibiotik juga terbukti dapat meningkatkan efisiensi pakan untuk memacu pertumbuhan ternak dan meningkatkan kualitas produk ternak, tetapi penggunaan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan sudah dilarang di Indonesia dan beberapa negara karena dapat memicu resistensi antibiotik pada bakteri patogen. Kondisi tersebut meningkatkan ketertarikan untuk mencari mikromolekul yang aman dan berdaya kerja tinggi untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik.

Para peneliti telah berusaha mencari alternatif pengganti antibiotika dan mereka menemukan peptida bioaktif sebagai bahan pengganti yang sangat potensial. Selain tuntutan ketersediaan senyawa baru untuk mengatasi resistensi bakteri patogen, vaksin hewan juga menjadi perhatian terutama untuk agen penyakit hewan yang sangat virulen dan kontagius.

Peptida didefinisikan sebagai senyawa alami yang tersusun dari beberapa monomer asam amino yang tergabung dan saling berikatan melalui ikatan peptida atau amida. Beberapa peptida secara biologi aktif dan berguna untuk meningkatkan status kesehatan manusia dan hewan yang biasa disebut sebagai peptida bioaktif.

Meskipun beberapa peptida bebas sudah tersedia secara alamiah, kebanyakan peptida bioaktif masih terikat dalam protein asal dan dilepaskan melalui proses enzimatis atau hidrolisis (Sanchez & Vasquez 2017).

Peptida dikenal sebagai bahan yang selektif dan efektif sekaligus relatif lebih aman dan dapat ditoleransi oleh tubuh (Fosgerau & Hoffmann 2015) karena berasal dari protein sehingga tidak dianggap sebagai benda asing sebagaimana obat kimia. Selain itu, peptida dapat dimetabolisme lebih cepat daripada senyawa organik sehingga dapat mengurangi risiko kontaminasi residu pada produk hewan seperti susu, telur dan daging. Pada hewan yang diberikan pengobatan kimia lebih berisiko meninggalkan residu pada produknya yang disebabkan oleh senyawa obat yang sulit dimetabolisme atau didegradasi oleh tubuh. Saat ini, kemajuan teknologi dan metode analisis yang ada memfasilitasi penemuan dan identifikasi peptida baru yang berpotensi untuk pengobatan. Teknologi dan metode tersebut memungkinkan modifikasi peptida yang telah ada secara alamiah atau membuat varian peptida yang sepenuhnya tiruan atau sintesis dengan aktivitas yang dapat diatur sesuai dengan yang diinginkan.

Selain aplikasi untuk meningkatkan kesehatan hewan, peptida juga digunakan untuk memperbaiki performans hewan seperti meningkatkan bobot badan dan meningkatkan kerja enzim pencernaan. Selain sebagai obat, peptida bioaktif mempunyai fungsi lain yaitu merangsang sistem imunitas dan penyembuhan luka (Fosgerau & Hoffmann 2015). Beberapa peptida sintesis atau yang telah mengalami modifikasi menunjukkan aktivitas yang jauh lebih tinggi daripada peptida dalam bentuk alamiahnya. Sebagai contoh, buserelin merupakan modifikasi hormon peptida yang mempunyai aktivitas jauh lebih tinggi daripada hormon alamiahnya (Mergler 2016).

Pasar protein dan peptida untuk terapi meningkat dan tumbuh pesat secara signifikan. Craik et al. (2013) melaporkan bahwa pasar untuk peptida dan protein untuk pengobatan diperkirakan lebih dari US \$40 milyar per tahun atau sekitar 10% dari pasar farmasi. Angka tersebut diperkirakan masih akan terus bertambah. Saat ini, lebih dari 60 peptida sudah memperoleh izin beredar di Amerika Serikat, Eropa dan Jepang. Lebih dari 150 peptida sedang dalam tahap pengembangan klinis dan 260 peptida telah diuji secara klinis pada manusia (Lau & Dunn 2018).

Makalah ini menampilkan peptida bioaktif yang telah ada dan telah diuji atau diaplikasikan untuk mendukung kesehatan dan produksi ternak. Selain itu, disampaikan juga peptida alamiah yang telah dimodifikasi untuk meningkatkan aktivitasnya, serta kemungkinan aplikasi peptida di Indonesia.

PEPTIDA SEBAGAI BAHAN ANTIMIKROBA

Peptida antimikroba (*antimicrobial peptides/AMPs*) biasanya tersusun dari 12-50 asam amino dan mempunyai struktur amfipatik (Lai & Gallo 2009). Peptida antimikroba biasanya bermuatan positif dan hidrofobik yang memungkinkan untuk berinteraksi dengan muatan negatif pada permukaan membran sel bakteri. Selanjutnya, peptida menyisip dan membentuk pori yang berakibat pada kerusakan membran dan kematian sel bakteri (Bechinger & Gorr 2017).

Kusumaningtyas (2013) melaporkan beberapa peptida antimikroba yang berasal dari susu dan fungsinya untuk meningkatkan status kesehatan hewan. Hidrolisis protein susu menghasilkan peptida antimikroba diantaranya adalah casecidin dan isracidin. Peptida casecidin 15 (YQEPVLGPVRGPFPI) dilaporkan dapat menghambat *Escherichia coli* DPC6053 dengan *minimum inhibitory concentration* (MIC) 0,5 mg/ml, *E. coli* DH5α (MIC 0,4 mg/ml) dan *Enterobacter sakazakii* (MIC >1 mg/ml), sedangkan peptida isracidin (RPKHPIKHQGLPQEVLENLLRF) dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* DPC6025 dan *E. coli* DH5α dengan MIC 0,2 mg/ml serta *E. sakazakii* (MIC 0,5 mg/ml) (Birkemo et al. 2009).

Peptida antimikroba baik yang alami maupun hasil sintesis mempunyai spektrum aktivitas yang luas untuk melawan bakteri Gram positif dan negatif, jamur serta virus. Beberapa peptida menunjukkan kemampuan untuk menghambat *Staphylococcus aureus* resisten terhadap metisilin dan *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten berbagai antibiotik (Wang et al. 2016). Kedua bakteri tersebut menjadi rentan karena aktivitas peptida secara langsung pada membran.

Peptida antimikroba yang telah dikenal mempunyai aktivitas antibakteri adalah cecropin dan magainin. Cecropin sintesis menunjukkan aktivitas penghambatan yang kuat terhadap bakteri *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus megatherium* dan *Microsporum luteus* (Andreu et al. 1985). Peptida tersebut awalnya diisolasi dari kulit katak Afrika, *Xenopus laevis*. Peptida sintetik dari magainin 2 menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif seperti *E. coli*, *S. aureus* dan *Klebsiella pneumoniae* (Zasloff 2002). Selain itu ada peptida Hylaranin hasil isolasi dari katak oriental *Hylarana latouchii* yang menunjukkan aktivitas antimikroba yang kuat terhadap *E. coli* dan *S. aureus* (Lin et al. 2014).

Aplikasi peptida antimikroba menunjukkan perbaikan performans dan kesehatan hewan. Campuran peptida antimikroba yang terdiri dari rekombinan peptida defensin dari babi dan peptida antibakteri larva

lalat (1:1) pada pakan terbukti dapat meningkatkan pertumbuhan dan imunitas anak babi yang baru disapih (Ren et al. 2015). Mereka juga menemukan bahwa peptida antimikroba dapat meningkatkan proliferasi sel T dan menurunkan persentase sel apoptosis. Dosis optimum peptida adalah 500 mg/kg pakan basal selama empat minggu atau 1.000 mg/kg pakan basal selama dua minggu.

Diet suplemen berupa peptida rekombinan β -defensin 2 (rpBD2) yang berasal dari sel imunitas babi memacu pertumbuhan dan memperbaiki morfologi usus, mengurangi kejadian diare dan potensi keberadaan bakteri patogen pada sekum babi yang baru disapih. Pemberian 5 g/kg diet basal rpBD2 sebagai pakan imbuhan yang dapat berfungsi sebagai obat pada anak babi dapat meningkatkan bobot badan, peningkatan rata-rata bobot badan harian, asupan rata-rata harian dan ketinggian vili usus duabelas jari dan usus besar (Peng et al. 2016). Pada babi dewasa, peptida telah digunakan untuk meningkatkan performans dan kesehatan (Tabel 1).

Walaupun sebagian besar penggunaan peptida antimikroba pada anak babi (Tabel 1), aplikasi peptida antimikroba pada ayam pedaging juga menunjukkan perbaikan performans dibandingkan dengan kontrol. Kelebihan antimikroba yang berasal dari peptida adalah meningkatkan bakteri baik pada rumen seperti *Fibrobacter*, mengurangi potensi kolonisasi bakteri patogen dan meningkatkan keanekaragaman mikroflora rumen. Penggunaan rekombinan defensin dan peptida antibakteri lalat 3 g/300-600 g konsentrat pada kambing Juvenil dapat meningkatkan bobot badan, bobot badan harian dan aktivitas enzim pectinase, xylanase dan lipase (Liu et al. 2017).

Pada ayam pedaging, peptida P-5 telah digunakan dalam dua fase pertumbuhan yaitu *starter* (umur 0-21 hari) dan *finisher* (umur 22-35 hari). Suplementasi dengan peptida antimikroba A3 sebanyak 60 mg/kg

pakan meningkatkan performans pertumbuhan, retensi nutrisi, morfologi intestinal dan mengurangi bakteri koliform usus. Perolehan bobot badan dan retensi bahan kering ayam pedaging (umur 0-35 hari) lebih tinggi daripada perlakuan tanpa penambahan peptida. Tinggi vili usus duabelas jari, usus besar, serta tinggi dan luas vili (VH:CD) usus duabelas jari, usus halus dan usus besar lebih tinggi pada unggas yang diberi 60 mg peptida antimikroba P-5/kg pakan dibandingkan dengan unggas tanpa penambahan peptida (Choi et al. 2013).

Perkembangan peptida antimikroba dan obat dari sumber protein yang berbeda merupakan salah satu bentuk kemajuan di bidang farmasi, terutama dalam upaya pencarian alternatif pengganti antibiotika dan obat-obat kimia. Sebagai contoh, peptida protegrin (peptida yang berasal dari neutrophil babi) digunakan untuk mengatasi *mucositis* (Zaiou & Gallo 2002), polymixin digunakan untuk aplikasi topikal. Selain itu, ada peptida bermuatan positif antibiotik dan peptida siklik bermuatan positif gramicidin S telah digunakan di industri pangan dan farmasi.

APLIKASI PEPTIDA PADA TEKNOLOGI INSEMINASI BUATAN

Peptida untuk preservasi semen

Kehadiran bakteri kontaminan pada larutan penyangga semen dapat menyebabkan penurunan motilitas dan viabilitas sperma, reaksi akrosom yang terlalu cepat maupun aglutinasi sperma (Morrell & Wallgren 2014). Oleh karena itu, senyawa yang bersifat antimikroba merupakan faktor penting dalam proses penyimpanan semen. Larutan penyangga semen merupakan media yang sangat baik untuk pertumbuhan bakteri, terutama ketika antibiotik yang ditambahkan

Tabel 1. Beberapa penelitian tentang aplikasi peptida antimikroba pada nutrisi ternak

Peptida antimikroba dan dosis	Hewan	Pengaruh
AMP-A3; 60 atau 90 mg/kg	Anak babi	Peningkatan performans, total pencernaan nutrisi, morfologi dan mikroflora usus
AMP-P5, 40 atau 60 mg/kg	Anak babi	Perbaikan performans dan pencernaan nutrisi total serta mengurangi populasi <i>coliform</i>
Sintetik AMP-A 360 mg/kg atau sintetik AMP P-5 60 mg/kg	Anak babi	Peningkatan performans dan mengurangi kejadian diare pada anak babi lepas sapih
Campuran AMP (terutama tersusun dari peptida antibakteri lactoferrin, defensin tanaman dan khamir aktif) 400 mg/kg	Anak babi	Perbaikan efisiensi pakan, fungsi imun dan kapasitas antioksidan serta mengurangi kerusakan organ
Campuran lactoferrin, cecropin, defensin dan plectasin	Babi dewasa	Perbaikan performans, pengurangan insiden diare dan peningkatan kelangsungan hidup
Sublacin 5,76 mg/l	Ayam pedaging	Penurunan IL-1 β , IL-6, TNF α , penurunan necrotic enteritis yang dipicu oleh <i>Clostridium perfringens</i>

Sumber: Wang et al. (2015); Xiao et al. (2015)

sudah kehilangan aktivitasnya terhadap bakteri kontaminan.

Upaya pencarian peptida aktif telah dilakukan terutama untuk mengantisipasi resistensi mikroba yang dapat merusak semen. Peptida antimikroba untuk preservasi semen pada awalnya merupakan peptida bermuatan positif yang mempunyai aktivitas antimikroba tinggi tetapi toksik terhadap sperma. Selanjutnya dilakukan modifikasi untuk mencari peptida dengan aktivitas antimikroba tinggi tetapi tidak toksik dan merusak sperma. Schulze et al. (2015) melaporkan ditemukannya peptida sintetik magainin yang merupakan derivat peptida siklik, telah dicobakan untuk preservasi semen babi. Lebih lanjut, Schulze et al. (2016) menambahkan bahwa berdasarkan penelitian tentang selektivitas peptida terhadap bakteri target, stabilitas proteolitik, resistensi termodinamik dan mekanisme, termasuk di dalamnya interaksi dengan antibiotik konvensional telah mengarahkan pada kesimpulan bahwa peptida siklik merupakan kandidat yang sangat potensial sebagai antimikroba dalam penyimpanan semen.

Selain magainin, peptida siklik yang lain adalah peptida c-WFW. Peptida siklik c-WFW yang ditambahkan pada semen babi hutan terbukti dapat mempertahankan fertilitas dan kualitas sperma yang akan digunakan untuk inseminasi buatan. Peptida tersebut juga dinilai mampu menekan pertumbuhan bakteri dan bekerja sinergis dengan antibakteri gentamicin (Speck et al. 2014). Dosis c-WFW sebesar 4 μ M dapat mempertahankan kecepatan pergerakan dan kelangsungan hidup sperma pada inkubasi pada suhu 38°C secara *in vitro*. Selain itu, pengujian secara *in vivo* menunjukkan bahwa keberadaan peptida c-WFW tidak berpengaruh negatif terhadap kualitas sperma (Schulze et al. 2014).

Peran peptida dalam peningkatan fertilitas sperma

Fertilitas sperma didefinisikan sebagai kemampuan untuk membuahi sel telur sehingga menyebabkan kebuntingan, yang biasanya ditentukan berdasarkan motilitas dan normalitas bentuk sperma. Penurunan fertilitas berpengaruh negatif secara ekonomi dalam industri peternakan. Beberapa usaha dilakukan untuk meningkatkan fertilitas sperma. Saat ini, beberapa peptida telah diuji untuk meningkatkan kemampuan fertilisasi sperma. Penambahan rekombinan *heparin binding protein* (rHPB) pada saat sebelum penyimpanan semen menggunakan metode kryopreservasi konvensional dapat meningkatkan fertilitas sperma sapi pada kondisi hangat dan lembap (Alvarez-Gallardo et al. 2013). Fertilitas sperma akan menurun ketika digunakan di daerah tropis yang bersuhu hangat dengan kelembapan tinggi.

Molekul kimia heparin menyerupai *glycosaminoglycans* (GAGs) yang disekresikan dalam saluran reproduksi sapi betina (Alvarez-Gallardo et al. 2013). Heparin dan GAGs pada saluran reproduksi sapi betina akan berikatan dengan protein pada permukaan sperma sapi jantan. Ikatan tersebut selanjutnya menginduksi kapasitas sperma. Sapi jantan dengan fertilitas tinggi memproduksi ejakulat mempunyai afinitas ikatan yang kuat terhadap heparin (Marks & Ax 1985). Penguatan ikatan heparin dengan protein pada permukaan sperma pada akhirnya juga akan meningkatkan kapasitas sperma. Kapasitas berperan pada pelepasan enzim hidrolitik akrosin yang memungkinkan sperma membuahi ovum.

PENGUNAAN PEPTIDA DALAM TEKNOLOGI VAKSIN

Strategi vaksinasi telah terbukti sangat efektif untuk menurunkan mortalitas dan morbiditas akibat penyakit infeksius selama beberapa dekade. Meskipun demikian, vaksin konvensional masih memiliki beberapa kelemahan seperti ikut sertanya berbagai bahan antigenik dan tidak diperlukan yang kemungkinan berkontribusi terhadap penurunan proteksi vaksin dan respon imunitas. Selain itu, bahan antigenik tersebut juga dapat memicu reaksi alergi dan respon reaktogenik. Penggunaan vaksin menggunakan fragmen peptida pendek yang hanya mengandung materi antigenik target merupakan alternatif strategi untuk dapat meningkatkan respon imun terhadap molekul target tanpa menimbulkan reaksi alergi dari bahan lain yang tidak diinginkan (Li et al. 2014).

Sehubungan dengan vaksin peptida, identifikasi terhadap sekuen antigen target diperlukan agar selanjutnya dapat dibuat peptida sintesis dari antigen tersebut untuk imunisasi (WHO 2014). Salah satu contoh vaksin peptida adalah vaksin penyakit mulut dan kuku (PMK). Penyakit mulut dan kuku dapat dikontrol melalui pemotongan hewan yang terinfeksi atau yang terekspos penyakit tersebut. Cara lain adalah pencegahan melalui vaksinasi. Mengingat virus PMK sangat menular dan berbahaya maka pembuatan vaksin menggunakan kultur virus sangat berisiko. Oleh karena itu, vaksin peptida yang berasal dari bagian antigenik virus dapat menjadi solusi.

Wang et al. (2002) mendesain vaksin peptida sintesis untuk virus PMK dengan optimasi sisi imunogenisitas dan antigen reaksi silang sel T dan B. Vaksin tersebut melindungi 20 dari 21 babi yang diimunisasi dan kemudian diuji tantang virus infeksius PMK01 Taiwan. Vaksinasi dilakukan menggunakan peptida dengan dosis 12.5 μ g dan adjuvant yang tidak menimbulkan lesi. Vaksin tersebut terus dikembangkan untuk memperoleh vaksin yang lebih aman dan protektif. Zhang et al. (2014) mendesain vaksin baru

dengan nama peptida PB yang mengandung sekuen pada posisi 129-169 V P1 dan 346-370. Vaksin peptida baru tersebut menunjukkan imunogenisitas dan imunoproteksi terhadap virus PMK. Kelinci yang divaksinasi dengan dua kali dosis 50 µg peptida sintetik PB memberikan proteksi 100% terhadap infeksi virus PMK, sedangkan 1 dosis 100 µg memberikan proteksi 60% pada sapi.

Produksi massal untuk peptida vaksin PMK dapat dilakukan dengan menggunakan teknologi rekayasa genetik dan kloning. Vaksin hasil rekayasa ini bukan hanya lebih aman tetapi juga memberikan proteksi yang lebih tinggi. Lee et al. (2017) mengganti gen yang mengode protein struktural vaksin PMK dengan gen sintetik yang diinginkan. Selanjutnya, virus kimera tersebut siap diperbanyak dalam kultur sel.

PEPTIDA UNTUK DIAGNOSIS

Peptida untuk ELISA virus influenza H5N1

Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA) adalah teknik biokimia digunakan dalam imunologi terutama untuk mendeteksi kehadiran antibodi atau antigen dalam sampel. Metode ELISA peptida dapat menganalisis dan memilah sampai pada level sekuen asam amino, seperti pemetaan epitop atau menentukan sisi interaksi protein, sehingga mampu menampilkan informasi yang lebih mendalam dibandingkan dengan ELISA konvensional. ELISA peptida telah digunakan untuk mendeteksi biomarker antibodi spesifik pada diagnosis beberapa penyakit.

Penggunaan peptida juga dilakukan untuk mendeteksi virus H5N1. ELISA peptida dilakukan menggunakan epitop antigenik dan sangat *conserved* pada hemagglutinin H5, yaitu sekuen CNTQCNT. Prabakaran et al. (2009) melaporkan epitop imunogenik yang mengandung sekuen CNTKCQTP. Antibodi terhadap epitop tersebut terdeteksi pada sampel yang berasal dari hewan yang telah diimunisasi menggunakan virus H5N1 menggunakan metode *epitope-blocking* ELISA. Meskipun demikian, *epitope-blocking* ELISA dalam aplikasinya dinilai masih mahal dan sulit. Selanjutnya, Velumani et al. (2011) mengembangkan ELISA peptida yang baru untuk deteksi virus H5N1 menggunakan peptida yang tersusun dari sekuen asam amino CNTKCQTPMGAINSS. Peptida sintesis sebagai antigen dapat mendeteksi antibodi pada serum hewan yang terinfeksi virus H5N1 dengan lebih mudah, lebih murah dan berguna terutama untuk daerah pedalaman. ELISA peptida telah diuji menggunakan berbagai *clade* virus H5N1 dan menunjukkan hasil deteksi yang lebih baik dan lebih spesifik daripada *hemagglutinin inhibition* (HI), *dot blot* dan *immunofluorescence assay*

(IFA) yang menggunakan rekombinan protein HA1 sebagai antigen diagnostik (Velumani et al. 2011).

Peptida sintesis juga digunakan dalam ELISA untuk mendeteksi PMK. Peptida digunakan untuk mendeteksi antibodi terhadap protein non-struktural (*nonstructural proteins/NSPs*) virus PMK. Yang et al. (2010) mengembangkan ELISA menggunakan peptida sintesis untuk melapisi antigen dan menghasilkan metode yang spesifik, dapat diulang (*reproducible*), stabil, mudah dan dapat digunakan untuk membedakan virus PMK pada babi yang diimunisasi dan yang terinfeksi secara alami. Oem et al. (2005) melaporkan bahwa peptida CELHEKVSSHPIFKQ memberikan hasil yang sensitif untuk metode ELISA.

Peptida C untuk diagnosis diabetes pada hewan

Uji peptida C untuk diferensial diagnosis pada hewan terkena diabetes telah tersedia dalam dekade terakhir, meskipun masih terbatas beberapa spesies (Rosenfield et al. 2017). Peptida C telah digunakan secara luas untuk mengukur fungsi sel beta pankreas. Peptida tersebut diproduksi sama banyak dengan jumlah insulin endogen tetapi disekresikan dalam waktu yang lebih lama dan konstan. Uji peptida C mampu mendeteksi konsentrasi peptida C yang pada akhirnya dapat digunakan sebagai dasar untuk diagnosis dan manajemen diabetes (Leighton et al. 2017).

Pada diabetes melitus, produksi dan sekresi insulin endogen akan berkurang karena kerusakan pada sel beta pankreas yang mengakibatkan penurunan konsentrasi peptida C dalam plasma. Tóth et al. (2010) menggunakan *human double antibody radioimmunoassay* (RIA) untuk mendeteksi dan mengetahui konsentrasi peptida C dalam serum kuda serta menganalisis fungsi pankreas melalui beberapa stimulasi. Hasil deteksi tersebut menggambarkan adanya hubungan konsentrasi peptida C dengan fungsi pankreas. Tingkat penurunan konsentrasi peptida C menggambarkan tingkat kerusakan pada sel beta pankreas (Ghorbani & Shafiee-Nick 2015). Rosenfield et al. (2017) melaporkan bahwa peneliti telah berhasil membuat klon dan ekspresi gen pro-insulin pada anjing dan menggunakannya sebagai diagnosis standar untuk uji pro-insulin pada anjing. Protein hasil ekspresi tersebut dapat digunakan sebagai *marker* untuk mengidentifikasi disfungsi sel beta pada anjing. Protein pro-insulin pada penelitian tersebut adalah peptida C.

Pengukuran konsentrasi peptida C menghasilkan deteksi fungsi sel beta yang lebih baik daripada pengukuran insulin. Peptida C lebih lambat mengalami degradasi daripada insulin dengan waktu paruh 20-30 menit, sementara waktu paruh insulin 3-5 menit. Fakta tersebut menghasilkan stabilitas uji peptida C yang lebih baik karena dapat mengantisipasi fluktuasi respon

sel beta dalam rentang waktu yang lebih lama. Sebagian insulin disekresi oleh pankreas dan dimetabolisme dalam hati, sedangkan peptida C dibersihkan dalam sirkulasi perifer. Pembersihan atau degradasi peptida C terjadi pada kecepatan yang konstan, sedangkan degradasi insulin bervariasi membuat pengukuran menjadi kurang konsisten (Leighton et al. 2017).

Peptida untuk deteksi Tuberculosis

Tuberculosis (TB) pada sapi masih merupakan penyakit yang banyak menimbulkan kerugian di peternakan. Tuberculosis pada sapi disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium bovis* atau *M. caprae*. Bakteri tersebut dapat ditularkan ke manusia (zoonosis). Penularan patogen tersebut terjadi terutama disebabkan oleh kontak dengan sapi terinfeksi atau mengonsumsi produk ternak yang terkontaminasi seperti susu tanpa pasteurisasi (Müller et al. 2013).

Diagnosis TB dilakukan berdasarkan pengujian *smear sputum* menggunakan mikroskop (Shen et al. 2009). Metode tersebut mempunyai banyak kelemahan dan keterbatasan seperti sensitivitas yang bervariasi dan memerlukan waktu yang lama. Oleh karena itu, diperlukan metode diagnosis lain yang murah dan dapat mendeteksi serta membedakan infeksi *M. bovis* dengan patogen lain serta *Mycobacteria* yang berasal dari lingkungan.

Selama infeksi, *Mycobacterium* melepaskan protein dan peptida spesifik ke dalam peredaran darah (Pollock et al. 2013). Protein atau peptida tersebut dapat dijadikan penanda biologi yang sangat berguna untuk deteksi infeksi TB sapi subklinis (Lamont et al. 2014). Saat ini, telah teridentifikasi tiga peptida yaitu MB1895c, MB2515c dan Pks5 pada serum sapi yang dikembangkan untuk *indirect* ELISA untuk mendeteksi peptida spesifik *M. bovis* dalam serum. Deteksi terhadap keberadaan peptida tersebut dapat membedakan sampel serum sapi positif TB (bTB), terekspose bTB dan serum negatif.

Whelan et al. (2010) menggunakan peptida sintesis Rv3615c (Mb3645c) sebagai bahan uji antigen pada kulit untuk TB sapi dan membedakan hewan yang terinfeksi dengan yang divaksinasi (DIVA). Penggunaan peptida tersebut terbukti meningkatkan respon tes kulit dan memberikan hasil yang lebih sensitif dibandingkan dengan penggunaan protein ESAT-6, CFP-10 dan MPB83.

HORMON SINTETIS PEPTIDA

Sejumlah analog *luteinizing hormone-releasing hormone* (LHRH) telah digunakan dalam regulasi reproduksi hewan. Selain itu, *gonadotrophin-releasing*

hormone (GnRh) desiorelin, leuprolide dan buserelin merupakan peptida sintesis yang paling sering diresepkan sebagai pengobatan veteriner dan pembibitan ternak (Mergler 2016). Buserelin digunakan untuk menginduksi ovulasi pada sapi, kuda dan kelinci untuk meningkatkan keberhasilan konsepsi dan memperbaiki fungsi ovarium. Studi terhadap buserelin menunjukkan bahwa tidak ditemukan efek samping pada kardiovaskuler, urinasi dan ginjal, glukosa darah, serta sistem saraf pusat atau motilitas otot polos setelah pemberian buserelin (EMA 2009).

Gonadotrophin-releasing hormone sintesis mempunyai waktu paruh 3-10 kali lebih lambat daripada GnRH alamiah. GnRH sintesis juga lebih resisten terhadap degradasi enzim sehingga dapat meningkatkan viabilitasnya dengan mengganti glisin menjadi asam amino hidrofobik pada rantai asam aminonya (Lahlou et al. 2000). Eksperimen pada sapi perah Holstein-Friesian yang diberi perlakuan dengan 50 µg fertirelin dapat mengurangi biaya tanpa mempengaruhi efisisensi sinkronisasi waktu ovulasi untuk inseminasi buatan (Yamada et al. 2002).

GnRH sintesis ini mempunyai aktivitas yang jauh lebih tinggi daripada hormon alamiahnya. Sebagai contoh, aktivitas buserelin menunjukkan 100-200 kali lebih tinggi daripada aktivitas GnRH. Peptida sintesis fertirelin 2,5-10 kali lebih aktif daripada peptida alamiahnya (Mergler 2016). Pemberian buserelin asetat 0,084 mg secara intravena pada saat inseminasi buatan dapat meningkatkan keberhasilan kebuntingan pada sapi silangan *Bos indicus* yang mengikuti program *fixed time artificial insemination* (FTAI) (Demeterco et al. 2014).

Hormon sintesis peptida lain adalah analog vasopressin. *Anti-diuretic hormone* vasopressin disintesis dalam hipotalamus dan dilepaskan oleh lobus posterior kelenjar pituitari. Hormon tersebut bertugas untuk mempertahankan keseimbangan air dalam tubuh (Medeiros et al. 2014). Vasopressin mempunyai waktu paruh yang pendek sehingga dibuat peptida hasil modifikasi yang analog dengan vasopressin. Hormon sintesis yang analog dengan vasopressin tersebut adalah desmopressin (DDAVP: *Deamino-8-D arginine vasopressin*). Penggantian asam amino D arginin menjadi L-arginin pada vasopressin hingga menjadi desmopressin menyebabkan peningkatan aktivitas antidiuretik tetapi menurunkan aktivitas vasokonstriksi. Kemampuan mengurangi vasokonstriksi tersebut membuat desmopressin juga berguna untuk hewan yang menderita penyakit *von-willebrand* melalui mekanisme kontrol terhadap pendarahan kapiler (Borchers 2015). *Von Willebrand* merupakan suatu kelainan yang menyebabkan darah sulit membeku. Desmopressin merupakan pilihan yang direkomendasikan untuk pengobatan kucing yang

menderita polyuria karena diabetes insipidus sentralis (Campbell & Bredhauer 2008).

OBAT-OBATAN BERBASIS PEPTIDA

Peptida sintesis sebagai terapi atau diagnosis mulai banyak digunakan pada pengobatan manusia. Beberapa digunakan untuk pengobatan hewan. Obat berbasis peptida sangat potensial untuk dikembangkan dan digunakan pada hewan dalam rangka pengembangan produksi pangan. Biasanya peptida yang diperlukan hanya sedikit tetapi diperlukan peptida yang mempunyai aktivitas yang sangat tinggi. Peptida lebih mudah didegradasi tubuh daripada molekul lain sehingga kontaminasi atau residu dapat dikurangi.

Saat ini, teknik pembedahan juga mulai menggunakan peptida. Berawal dengan ditemukannya pelapis luka yang terbuat dari peptida yang membentuk serat dan kemudian berhasil digunakan dalam pembedahan. Keberhasilan tersebut dapat menjadikan serat tersebut sebagai salah satu pilihan selain proses penjahitan secara konvensional. Keuntungan peptida adalah sebagai perekat biologi yang mudah untuk didegradasi. Komponen tersebut diekstraksi dari hewan besar dan protease serin dari bisa ular *Crotalus durissus terrificus* (Barbosa et al. 2007). Peptida lain yang juga terbuat dari bisa ular digunakan untuk analgesik. Peptida yang diproduksi dari bisa ular kobra tersebut dalam dosis kecil mempunyai aktivitas analgesik yang jauh lebih tinggi daripada morfin. Perbedaan yang merupakan keunggulan peptida dari bisa tersebut adalah tidak menimbulkan ketergantungan sebagaimana morfin (Utkin 2015).

BIOAVAILABILITAS PEPTIDA

Meskipun beberapa peptida sangat bagus untuk pengobatan pada beberapa aplikasi, tetapi juga mempunyai sejumlah keterbatasan. Peptida yang diberikan secara oral dapat menjadi inaktif apabila peptida tersebut terdegradasi oleh enzim protease di sepanjang saluran pencernaan atau ketidakmampuannya melewati epitel. Beberapa peptida alami dipecah oleh enzim pencernaan yang secara efektif memecah ikatan peptida yang membuat peptida inaktif (Lau & Dunn 2018). Peptida tersebut juga cenderung lipofilik dengan gugus fungsional positif yang dapat mengurangi kemampuan absorpsinya (Bruno et al. 2013).

Sebagian besar peptida biasanya mempunyai ukuran molekul yang lebih besar dibandingkan dengan obat-obatan kimia yang mengakibatkan kesulitan untuk melewati membran kapiler. Kondisi tersebut akan mempengaruhi farmakokinetik dan farmakodinamik yang dapat menyebabkan penurunan bioavailabilitas dan kemampuannya untuk mempertahankan bentuk

aktifnya. Bahkan, setelah peptida telah masuk ke dalam sirkulasi, peptida mempunyai waktu paruh yang pendek karena dimetabolisme dengan cepat dan dikeluarkan kembali dari tubuh melalui filtrasi glomerulus ginjal, degradasi enzim, proses sistem imun dan endositosis (Otvost & Wade 2014). Para peneliti berusaha mencari pemecahan masalah bioavailabilitas peptida tersebut seperti transformasi struktur protein atau peptida, penggunaan inhibitor enzim, polimer *mucocoadhesif* dan pemicu permeabilitas (Muheem et al. 2016).

Dulal (2010) melaporkan beberapa cara untuk meningkatkan bioavailabilitas peptida. Pertama, pemberian obat secara lokal pada area target tanpa melibatkan sistem sirkulasi. Cara tersebut dapat menurunkan degradasi peptida oleh sistem imun dan protease. Kedua, adalah *entrapment* dan enkapsulasi. Metode tersebut telah digunakan secara luas untuk memasukkan obat ke pasien, yaitu hidrogel dan nanokapsul atau *microsphere*. Selain itu, ada *lipid drug delivery system* seperti liposom dan mikroemulsi. Contoh pemanfaatan metode tersebut untuk meningkatkan viabilitas peptida adalah enkapsulasi peptida dari *whey* dalam nanoliposom turunan lecithin kedelai (Mohan et al. 2016). Teknik mikroemulsi *water-in-oil* (w/o) telah dicobakan pada peptida yang diberikan secara oral untuk meningkatkan penyerapan dalam usus (Liu et al. 2013). Teknik tersebut diharapkan dapat melindungi peptida dari hidrolisis enzim dan dapat mengatasi masalah barrier absorpsi.

KEMUNGKINAN APLIKASI PEPTIDA DI INDONESIA

Aplikasi peptida di Indonesia belum populer, terutama dalam bidang veteriner, sehingga produksi dan pengembangan masih terbuka luas, mengingat Indonesia mempunyai sumber peptida bioaktif yang melimpah. Penelitian kerjasama multidisiplin diperlukan untuk mendapatkan hasil sesuai dengan yang diharapkan. Pertimbangan lain adalah strategi untuk mengurangi biaya produksi peptida sangat penting selain aktivitas dan bioavailabilitas. Karena produksi peptida murni masih mahal terutama untuk produksi ternak, maka penggunaan hidrolisat peptida tanpa pemurnian dapat menjadi pilihan. Contohnya, hidrolisat kasein sapi biasa digunakan oleh olahragawan sebagai minuman suplemen untuk membentuk otot (Manninen 2009). Selain itu, penggunaan enzim mikroba dalam produksi peptida juga dapat menekan biaya produksi dibandingkan dengan penggunaan enzim yang lain seperti enzim pencernaan seperti tripsin, pepsin dan kimotripsin.

Metode hidrolisis dalam rangka produksi peptida disesuaikan dengan sifat fisikokimia sumber protein. Sebagai contoh, protein dari bulu dan batang bulu

mengandung protein keratin yang biasanya dapat dihidrolisis menggunakan asam, basa atau enzim keratinase. Protein susu, daging atau bagian dari tanaman biasanya dihidrolisis menggunakan enzim tripsin, pepsin ataupun enzim yang berasal dari mikroba (Hou et al. 2017). Apabila peptida yang diproduksi dari sumber protein yang berbeda mempunyai aktivitas yang sama, pilihan untuk pengembangan adalah yang mempunyai sumber protein yang melimpah dengan biaya hidrolisis yang rendah. Peptida bioaktif diprediksi dapat menjadi obat masa depan dengan peningkatan aktivitas fisiologi pada manusia dan hewan menggunakan teknologi molekuler dan bioinformatika yang telah tersedia. Hal tersebut juga membuka kemungkinan aplikasi yang lebih luas di Indonesia.

KESIMPULAN

Peptida alamiah atau sintetis dapat digunakan di bidang veteriner dan produksi ternak. Aplikasi peptida sebagai antimikroba, vaksin, alat diagnosis, hormon sintetis atau pengobatan. Beberapa peptida sintetis dapat mempunyai aktivitas yang jauh lebih tinggi dengan biaya produksi yang lebih murah daripada peptida alamiahnya karena dapat dimodifikasi sesuai keperluan dan targetnya. Aplikasi peptida di Indonesia masih belum populer terutama di bidang veteriner dan produksi ternak. Kondisi tersebut membuka peluang yang luas untuk pengembangan peptida di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez-Gallardo H, Kjelland ME, Moreno JF, Welsh TH, Randel RD, Lammoglia MA, Pérez-Martínez M, Lara-Sagahón AV, Esperón-Sumano AE, Romo S. 2013. Gamete therapeutics: Recombinant protein adsorption by sperm for increasing fertility via artificial insemination. *PLoS One*. 8:e65083.
- Andreu D, Merrifield RB, Steiner H, Boman HG. 1985. N-Terminal analogues of cecropin A: Synthesis, antibacterial activity, and conformational properties. *Biochemistry*. 24:1683-1688.
- Barbosa MDS, Gregh SLA, Passanezi E. 2007. Fibrin adhesive derived from snake venom in periodontal surgery. *J Periodontol*. 78:2026-2031.
- Bechinger B, Gorr SU. 2017. Antimicrobial peptides: Mechanism of action and resistance. *J Dent Res*. 96:254-260.
- Birkemo GA, O'Sullivan O, Ross RP, Hill C. 2009. Antimicrobial activity of two peptides casecidin 15 and 17, found naturally in bovine colostrum. *J Appl Microbiol*. 106:233-240.
- Borchers A. 2015. Hemostatic drug in small animal critical care medicine. Silverstein DC, Hopper K, editors. New York (US): Elsevier.
- Bruno BJ, Miller GD, Lim CS. 2013. Basics and recent advances in peptide and protein drug delivery. *Ther Deliv*. 4:1443-1467.
- Campbell FE, Bredhauer B. 2008. Trauma-induced central diabetes insipidus in a cat. *Aust Vet J*. 86:102-105.
- Cheng G, Hao H, Xie S, Wang X, Dai M, Huang L, Yuan Z. 2014. Antibiotic alternatives: The substitution of antibiotics in animal husbandry? *Front Microbiol*. 5:1-15.
- Choi SC, Ingale SL, Kim JS, Park YK, Kwon IK, Chae BJ. 2013. Effects of dietary supplementation with an antimicrobial peptide-P5 on growth performance, nutrient retention, excreta and intestinal microflora and intestinal morphology of broilers. *Anim Feed Sci Technol*. 185:78-84.
- Craik DJ, Fairlie DP, Liras S, Price D. 2013. The future of peptide-based drugs. *Chem Biol Drug Des*. 81:136-147.
- Demeterco D, Henry DD, Mercadante VRG, Lamb GC, Gaievski FR, Weiss B, Turbay GN, Segui MS, Weiss RR, Bertol MAF, Kozicki LE. 2014. The effects of intramuscular or intravenous injections of gonadotropin releasing hormone at fixed-time artificial insemination on pregnancy rates of bos indicus beef cows. *Brazilian Arch Biol Technol*. 57:361-366.
- Dulal P. 2010. Protein or peptide drugs: Application, problems and solutions. *Biotechnol Soc Nepal*. 2010:1-5.
- EMA. 2009. Buserelin: Summary report. London (UK): The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- Fosgerau K, Hoffmann T. 2015. Peptide therapeutics: Current status and future directions. *Drug Discov Today*. 20:122-128.
- Ghorbani A, Shafiee-Nick. 2015. Pathological consequences of C-peptide deficiency in insulin-dependent diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 6:145-150.
- Hou Y, Wu Z, Dai Z, Wang G, Wu G. 2017. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *J Anim Sci Biotechnol*. 8:1-13.
- Kusumaningtyas E. 2013. Peran peptida susu sebagai antimikroba untuk meningkatkan kesehatan. *Wartazoa*. 23:63-75.
- Lahlou N, Carel JC, Chaussain JL, Roger M. 2000. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of GnRH agonists: Clinical implications in pediatrics. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 1:1723-1737.
- Lai Y, Gallo RL. 2009. AMPed up immunity: How antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense. *Trends Immunol*. 30:131-141.

- Lamont EA, Janagama HK, Ribeiro-Lima J, Vulchanova L, Seth M, Yang M, Kurmi K, Waters WR, Thacker T, Sreevatsan S. 2014. Circulating *Mycobacterium bovis* peptides and host response proteins as biomarkers for unambiguous detection of subclinical infection. *J Clin Microbiol.* 52:536-543.
- Lau JL, Dunn MK. 2018. Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions. *Bioorg Med Chem.* 26:2700-2707.
- Lee S, Lee Y, Kim R, Park J, Park M, Ko M, Chu J, Lee K, Kim S, Tark D, et al. 2017. Rapid engineering of foot and mouth disease vaccine and challenge viruses. *J Virol.* 91:e00155-17.
- Leighton E, Sainsbury CAR, Jones GC. 2017. A practical review of C-peptide testing in diabetes. *Diabetes Ther.* 8:475-487.
- Li W, Joshi M, Singhanian S, Ramsey K, Murthy A. 2014. Peptide vaccine: Progress and challenges. *Vaccines.* 2:515-536.
- Lin Y, Hu N, Lyu P, Ma J, Wang L, Zhou M, Guo S, Chen T, Shaw C. 2014. Hylaranins: Prototypes of a new class of amphibian antimicrobial peptide from the skin secretion of the oriental broad-folded frog, *Hylarana latouchii*. *Amino Acids.* 46:901-909.
- Liu D, Kobayashi T, Russo S, Li F, Plevy SE, Gambling TM, Carson JL, Mumper RJ. 2013. *In vitro* and *in vivo* evaluation of a water-in-oil microemulsion system for enhanced peptide intestinal delivery. *AAPS J.* 15:288-298.
- Liu Q, Yao S, Chen Y, Gao S, Yang Y, Deng J, Ren Z, Shen L, Cui H, Hu Y, et al. 2017. Use of antimicrobial peptides as a feed additive for juvenile goats. *Sci Rep.* 7:1-11.
- Manninen AH. 2009. Protein hydrolysates in sports nutrition. *Nutr Metab (Lond).* 6:1-5.
- Marks JL, Ax RL. 1985. Relationship of nonreturn rates of dairy bulls to binding affinity of heparin to sperm. *J Dairy Sci.* 28:2078-2082.
- Medeiros LKG, Corneiro RS, Alves AS, Mendes RS, Neto PIN. 2014. Diabetes insipidus in cat. *Acta Sci Vet.* 42:1-4.
- Mergler M. 2016. Peptides in veterinary medicine. In: *Veterinary peptides* bachem. Bachem Group.
- Mohan A, McClements DJ, Udenigwe CC. 2016. Encapsulation of bioactive whey peptides in soy lecithin-derived nanoliposomes: Influence of peptide molecular weight. *Food Chem.* 213:143-148.
- Morrell J, Wallgren M. 2014. Alternatives to antibiotics in semen extenders: A review. *Pathogens.* 3:934-946.
- Muheem A, Shakeel F, Jahangir MA, Anwar M, Mallick N, Jain GK, Warsi MH, Ahmad FJ. 2016. A review on the strategies for oral delivery of proteins and peptides and their clinical perspectives. *Saudi Pharm J.* 24:413-428.
- Müller B, Dürr S, Alonso S, Hattendorf J, Laisse CJM, Parsons SDC, van Helden PD, Zinsstag J. 2013. Zoonotic *Mycobacterium bovis*-induced tuberculosis in humans. *Emerg Infect Dis.* 19:899-908.
- Oem JK, Yeh M, Kye SJ, Lee KN, Park JH, Kim YJ, Song HJ. 2005. Development of synthetic peptide ELISA based on non-structural protein 2C of foot and mouth disease virus. *J Vet Sci.* 6:317-325.
- Otvost JL, Wade JD. 2014. Current challenges in peptide-based drug discovery. *Front Chem.* 2:1-4.
- Peng Z, Wang A, Xie L, Song W, Wang J, Yin Z, Zhou D, Li F. 2016. Use of recombinant porcine β -defensin 2 as a medicated feed additive for weaned piglets. *Nat Sci Reports.* 6:1-8.
- Pollock NR, Macovei L, Kanunfre K, Dhiman R, Restrepo BI, Zarate I, Pino PA, Mora-Guzman F, Fujiwara RT, Michel G, et al. 2013. Validation of *Mycobacterium tuberculosis* Rv1681 protein as a diagnostic marker of active pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 51:1367-1373.
- Prabakaran M, Ho HT, Prabhu N, Velumani S, Szyport M, He F, Chan KP, Chen LM, Matsuoka Y, Donis RO, Kwang J. 2009. Development of epitope-blocking ELISA for universal detection of antibodies to human H5N1 influenza viruses. *PLoS One.* 93:127-134.
- Ren ZH, Yuan W, Deng HD, Deng JL, Dan QX, Jin HT, Tian CL, Peng X, Liang Z, Gao S, et al. 2015. Effects of antibacterial peptide on cellular immunity in weaned piglets. *J Anim Sci.* 93:127-134.
- Rosenfield DA, Nichi M, Pizzutto CS. 2017. C-peptide for diagnostics and therapy: A veterinary medicine point of view. *Pesq Vet Bras.* 37:36-40.
- Sanchez A, Vasquez A. 2017. Bioactive peptides: A review. *Food Qual Saf.* 1:29-46.
- Schulze M, Dathe M, Waberski D, Müller K. 2016. Liquid storage of boar semen: Current and future perspectives on the use of cationic antimicrobial peptides to replace antibiotics in semen extenders. *Theriogenology.* 85:39-46.
- Schulze M, Grobbel M, Müller K, Junkes C, Dathe M, Rüdiger K, Jung M. 2015. Challenges and limits using antimicrobial peptides in boar semen preservation. *Reprod Domest Anim.* 50:5-10.
- Schulze M, Junkes C, Mueller P, Speck S, Ruediger K, Dathe M, Mueller K. 2014. Effects of cationic antimicrobial peptides on liquid-preserved boar spermatozoa. *PLoS One.* 9:e100490.
- Shen G, Behera D, Bhalla M, Nadas A, Laal S. 2009. Peptide-based antibody detection for tuberculosis diagnosis. *Clin Vaccine Immunol.* 16:49-54.
- Speck S, Courtiol A, Junkes C, Dathe M, Müller K, Schulze M. 2014. Cationic synthetic peptides: Assessment of their antimicrobial potency in liquid preserved boar semen. *PLoS One.* 9:e105949.

- Tóth F, Frank N, Martin-Jiménez T, Elliott SB, Geor RJ, Boston RC. 2010. Measurement of C-peptide concentrations and responses to somatostatin, glucose infusion, and insulin resistance in horses. *Equine Vet J*. 42:149-155.
- Utkin YN. 2015. Animal venom studies: Current benefits and future developments. *World J Biol Chem*. 6:28-33.
- Velumani S, Ho HT, He F, Musthaq S, Prabakaran M, Kwang J. 2011. A novel peptide ELISA for universal detection of antibodies to human H5N1 influenza viruses. *PLoS One*. 6:e20737.
- Wang CY, Chang TY, Walfield AM, Ye J, Shen M, Chen SP, Li MC, Lin YL, Jong MH, Yang PC, et al. 2002. Effective synthetic peptide vaccine for foot-and-mouth disease in swine. *Vaccine*. 20:2603-2610.
- Wang S, Zeng X, Yang Q, Qiao S. 2016. Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. *Int J Mol Sci*. 17:1-12.
- Wang S, Zeng XF, Wang QW, Zhu JL, Peng Q, Hou CL, Thacker P, Qiao SY. 2015. The antimicrobial peptide sublancin ameliorates necrotic enteritis induced by *Clostridium perfringens* in broilers. *J Anim Sci*. 93:4750-4760.
- Whelan AO, Clifford D, Upadhyay B, Breadon EL, McNair J, Hewinson GR, Vordermeier MH. 2010. Development of a skin test for bovine tuberculosis for differentiating infected from vaccinated animals. *J Clin Microbiol*. 48:317-381.
- WHO. 2014. Synthetic peptide vaccine [Internet]. Geneva (Switzerland): World Health Organization. Available from: http://www.who.int/biologicals/vaccines/synthetic_peptide_vaccines/en/
- Xiao H, Shao F, Wu M, Ren W, Xiong X, Tan B, Yin Y. 2015. The application of antimicrobial peptides as growth and health promoters for swine. *J Anim Sci Biotechnol*. 6:1-6.
- Yamada K, Nakao T, Nakada K, Matsuda G. 2002. Influence of GnRH analogue (fertiorelin acetate) doses on synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci*. 74:27-34.
- Yang J, Yang S, Yang Y, Zhi A, Zhao D, Zhi Y, Xing G, Deng R, Chai S, Zhang G. 2010. Development of synthetic peptide ELISA assay for the detection of foot-and-mouth disease virus nonstructural protein antibodies. *Agric Sci China*. 9:1677-1683.
- Zaiou M, Gallo RL. 2002. Cathelicidins, essential gene-encoded mammalian antibiotics. *J Mol Med*. 80:549-561.
- Zasloff M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*. 415:389-395.
- Zhang Z, Pan L, Ding Y, Zhou P, Lv J, Chen H, Fang Y, Liu X, Chang H, Zhang J, et al. 2014. Efficacy of synthetic peptide candidate vaccines against serotype-A foot-and-mouth disease virus in cattle. *Appl Microbiol Biotechnol*. 3:1389-1398.