



Arginase as a potential cancer treatment: a review

Review: Arginase sebagai terapi potensial kanker

Endah Puspitasari*, Silvia Imana Nafiah, Melinda Ayu Trinita

Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Indonesia

*Corresponding author: e.puspitasari@unej.ac.id

Abstract

Background: The high prevalence of cancer leads to the development of new strategies for cancer therapy. The FDA has already approved the amino-acid degrading enzyme as a treatment for lymphoma and leukemia. Furthermore, research related to other amino acid-degrading enzymes was carried out to open up the potential for the development of new cancer therapy strategies. As an amino acid-degrading enzyme, arginase breaks down arginine into urea and ornithine. It is an important part of the urea cycle and may be able to fight tumors.

Objective: This article review aims to provide information related to arginase in cancer therapy.

Method: This review article was written based on a literature study by using electronic databases, including Google Scholar, ScienceDirect, and PubMed, from the last 10 years of publication, using keywords: therapeutic enzymes, cancer arginine, arginase, and recombinant human arginase.

Results: Studies showed that arginase has the potential for cancer therapy. Arginase production has been carried out in several scientific studies and showed good results.

Conclusion: Arginase has the potential to be developed as a cancer therapy. Hence, the development of arginase production can be one of the solutions for alternative cancer treatments.

Keywords: Arginase, amino acid-degrading enzyme, cancer

Intisari

Latar belakang: Tingginya prevalensi kanker secara global mendorong pengembangan baru strategi terapi kanker. Asparaginase sebagai enzim pendegradasi asam amino telah digunakan dan disetujui oleh FDA untuk terapi leukimia dan limfoma. Selanjutnya, penelusuran terkait enzim pendegrasi asam amino lainnya dilakukan untuk membuka potensi pengembangan strategi terapi kanker yang baru. Arginase merupakan pendegradasi asam amino yang berperan dalam siklus urea dengan menghidrolisis arginin menjadi urea and ornitin dan memiliki potensi aktivitas antitumor.

Tujuan: Ulasan artikel ini bertujuan untuk memberikan informasi terkait enzim arginase dalam terapi kanker.

Metode: Strategi pencarian dilakukan pada database elektronik pada artikel dalam kurun waktu 10 tahun terakhir, meliputi database Google Scholar, ScienceDirect, dan PubMed. Kata kunci yang digunakan diantaranya *therapeutic enzymes, cancer arginine, arginase, dan recombinant human arginase*.

Hasil: Beberapa studi menunjukkan bahwa arginase berpotensi menjadi terapi kanker. Produksi arginase telah dilakukan dalam beberapa penelitian ilmiah dan menunjukkan hasil yang baik.

Kesimpulan: Arginase memiliki potensi menjadi terapi kanker, sehingga pengembangan produksi arginase dapat menjadi salah satu solusi untuk alternatif pengobatan kanker.

Kata kunci: Arginase, enzim pendegradasi asam amino, kanker

1. Pendahuluan

Berdasarkan data yang dihimpun oleh WHO, kanker merupakan penyebab kematian tertinggi kedua secara global dengan jumlah kasus baru pada tahun 2020 sebesar 18.094.716 kasus. Pada tahun 2020 tercatat 389.768 kasus kanker di Indonesia (GCO, 2022). Strategi terapi kanker yang dilakukan adalah terapi kuratif melalui pembedahan dan kombinasi obat sitotoksik kemoterapeutik dengan obat terapi tertarget dan imunoterapi.

Namun, terapi tersebut memiliki kelemahan terkait dengan toksisitas dan efek sampingnya yang tinggi (Zugazagoitia *et al.*, 2016).

Terapi dengan enzim juga dikembangkan sebagai pengobatan pada kanker karena kemampuan obat-obatan enzim terikat pada target dengan afinitas yang tinggi. Meskipun tidak ada enzim yang spesifik terhadap satu jenis kanker, ketidakseimbangan aktivitas enzim yang terjadi tetap dapat digunakan sebagai evaluasi klinis. Salah satu pengembangan terapi enzim yaitu dengan menargetkan metabolisme asam amino sel kanker. Pada sel kanker, dibutuhkan lebih banyak energi dan nutrisi termasuk asam amino untuk mempertahankan proliferasi yang cepat dan tidak normal (Wang *et al.*, 2021). Namun, sel kanker tertentu memiliki sifat auksotrof untuk asam amino tertentu, seperti asparagin, arginin, dan metionin (Kumari & Bansal, 2021). Oleh karena itu, degradasi asam amino tersebut dengan enzim dapat menghambat dan merusak pertumbuhan sel kanker. Di sisi lain, sel normal akan tetap berada dalam kondisi baik karena memiliki kemampuan untuk mensintesis asam amino spesifik melalui sintesis endogen.

Salah satu enzim pendegradasi asam amino yang telah disetujui oleh *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) untuk terapi kanker yaitu asparaginase *Erwinia chrysanthemi* (FDA, 2022). Enzim tersebut dapat mendegradasi asparagin pada sel kanker yang bersifat auksotrof asparagin. Saat ini, enzim tersebut telah disetujui untuk digunakan pada terapi leukimia dan limfoma (FDA, 2022). Keberhasilan enzim tersebut untuk terapi kanker menyebabkan banyaknya penelitian dan pengembangan akan enzim lain yang dapat mendegradasi asam amino sel kanker. Salah satunya yaitu arginase, enzim yang mendegradasi asam amino arginin.

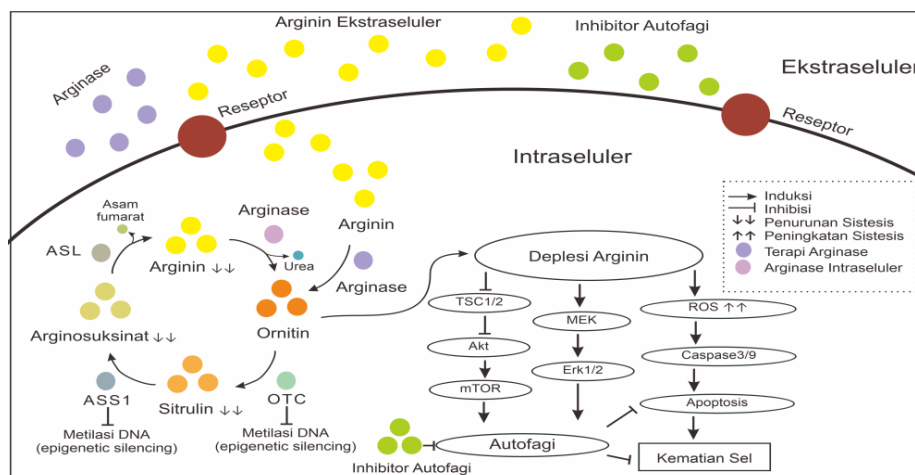
2. Metode

Strategi pencarian dilakukan pada database elektronik yaitu Google Scholar, ScienceDirect, dan PubMed dengan kata kunci yang digunakan, antara lain *therapeutic enzymes, cancer arginine, arginase, dan recombinant human arginase*. Kriteria inklusi yang ditetapkan dalam penulisan artikel ini yaitu jurnal-jurnal nasional dan internasional yang membahas terkait peran arginase untuk terapi kanker, formulasi dan optimasi arginase, karakterisasi arginase, serta formulasi arginase untuk terapi kanker. Artikel yang disitasi merupakan artikel yang ditulis dalam 10 tahun terakhir. Namun, terdapat pengecualian rentang tahun artikel yang disitasi ketika membahas pengembangan arginase sebagai terapi kanker sejak awal ditemukan. Kriteria eksklusi yaitu artikel yang membahas peran arginase untuk terapi penyakit selain kanker.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Hubungan arginin, arginase, dan kanker

Arginin merupakan asam amino nonesensial atau semi-esensial yang memiliki peran penting dalam berbagai fungsi biologis seperti proliferasi sel dan sintesis protein (Zou *et al.*, 2019). Asam amino ini juga merupakan prekursor dari berbagai senyawa dalam tubuh seperti oksida nitrat, poliamina, prolin, kreatinin, glutamat, dan urea (Anakha *et al.*, 2022). Secara intraseluler, asam amino ini disintesis dari sitrulin melalui siklus urea. Enzim argininosuksinat sintase 1 (ASS1) akan mengkatalisis konversi sitrulin dan asam aspartat menjadi argininosuksinat. Selanjutnya dengan bantuan enzim argininosuksinat liase (ASL), argininosuksinat dapat dikonversi menjadi arginin dan asam fumarat. Arginin yang terbentuk dapat mengalami degradasi menjadi ornitin dan urea dengan bantuan enzim arginase. Kemudian, ornitin dapat dikonversi kembali menjadi sitrulin oleh ornitin transkarbamilase (OTC) (Gambar 1; Fultang *et al.*, 2016). Beberapa enzim lain juga terlibat dalam metabolisme arginin, antara lain nitrit oksida sintase (NOS) sebagai pengkatalis pembentukan NO dari arginin, glisin amidinotransferase (GAT) sebagai pengatalis sintesis ornitin dari glisin dan arginin, dan arginindekarboksilase (ADC) sebagai pengkatalis reaksi dekarboksilase arginin menjadi agmatin dan CO₂ (Fultang *et al.*, 2016).



Gambar 1. Mekanisme arginase pada terapi kanker (Fultang *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2021)

Pada sel kanker, kebutuhan akan energi dan nutrisi meningkat, termasuk kebutuhan akan asam amino arginin untuk mendukung proses proliferasi sel yang cepat. Namun, beberapa jenis kanker kehilangan kemampuannya untuk mensintesis arginin secara dependen (*arginine auxotrophic*) (Fultang *et al.*, 2016). Berdasarkan beberapa penelitian, kondisi tersebut terkait dengan ekspresi ASS1 negatif atau rendah pada sel kanker. ASS1 merupakan enzim yang mengubah sitrulin menjadi argininosuksinat dan

dikenal sebagai enzim pembatas kecepatan dalam pembentukan arginin (Zou *et al.*, 2019). Selain itu, ASS1 juga memiliki fungsi sebagai *inhibitor* dalam pertumbuhan tumor (Zou *et al.*, 2019). Ekspresi ASS1 umumnya tinggi pada jaringan normal, tetapi rendah (ASS1⁻) pada beberapa jenis sel kanker seperti melanoma, karsinoma hepatoseluler, *myxofibrosarcom*, dan karsinoma prostat (Anakha *et al.*, 2022). Selain ASS1, enzim lain yang juga berperan pada kondisi auksotrof yaitu enzim ASL yang menjadi katalis pada reaksi argininosuksinat menjadi arginin serta OTC yang berperan sebagai katalis pada reaksi ornitin menjadi sitrulin. Ekspresi ASL yang rendah telah diobservasi pada glioblastoma (GBM) (Hung *et al.*, 2017). Sedangkan ekspresi OTC yang rendah telah diobservasi pada *sarcoma* pada anak-anak dan tumor otak (Vardon *et al.*, 2017). Ekspresi yang rendah pada enzim-enzim tersebut disebabkan oleh metilasi DNA pada gen promotor yang berpengaruh terhadap kejadian *epigenetic silencing* (Kumari & Bansal, 2021). Terjadinya kondisi auksotrof arginin tersebut menyebabkan sel kanker hanya mendapatkan arginin dari luar sel. Oleh karena itu, keberadaan kondisi tersebut dapat dimanfaatkan sebagai target untuk pengobatan kanker (Anakha *et al.*, 2022).

Salah satu enzim yang dapat digunakan untuk terapi pada kanker dengan kondisi auksotrof arginin yaitu enzim arginase. Arginase merupakan metaloenzim yang mengandung mangan binuklir yang mengkatalisis konversi arginin menjadi ornitin dan urea (Caldwell *et al.*, 2015). Pada manusia, arginase terdapat dalam dua isozim yaitu arginase 1 (ARG1) dan arginase 2 (ARG2). Kedua isoform tersebut memiliki fungsi yang serupa dan membutuhkan ion mangan sebagai kofaktor untuk aktivitasnya (Caldwell *et al.*, 2015). Meskipun demikian, kedua isoform tersebut memiliki gen penyandi, letak distribusi jaringan, lokalisasi subseluler, dan regulasi molekuler yang berbeda. ARG1 terdiri dari 322 asam amino, terletak di sitoplasma dan sebagian besar diekspresikan di hati (Bhatta *et al.*, 2017). ARG 1 memediasi berbagai fungsi sel serta memiliki fungsi utama pada biosintesis urea (Schlune *et al.*, 2015). Sedangkan ARG2 mengandung 354 asam amino, sebagian besar ditemukan di mitokondria, dan diekspresikan di ginjal, prostat, usus kecil, dan kelenjar susu laktasi (Pandey *et al.*, 2014). ARG2 berperan sebagai mediator berbagai fungsi seluler seperti proliferasi dan diferensiasi, apoptosis, serta autofagi di berbagai jenis sel (Xiong *et al.*, 2014).

Arginase dapat digunakan untuk terapi pada kanker karena enzim ini menyebabkan deplesi arginin pada sel auksotrof. Pada studi sebelumnya, disebutkan bahwa kondisi auksotrof berkaitan dengan defisiensi enzim ASS1, ASL dan OTC. Defisiensi tersebut menyebabkan kebutuhan arginin untuk proses proliferasi sel hanya berasal dari luar sel

kanker. Dalam hal ini, arginase akan mendegradasi arginin dari luar sel tersebut menjadi ornitin, sehingga akan terjadi deplesi arginin di dalam sel. Hasil degradasi tersebut tidak dapat disintesis menjadi arginin kembali karena di dalam sel, sehingga terjadi defisiensi enzim ASS1 atau ASL atau OTC yang berperan penting pada biosintesis arginin (Gambar 1; Wang *et al.*, 2021). Kondisi deplesi arginin di dalam sel menyebabkan level ATP dan NO rendah sehingga terjadi aktivasi mTOR dan ERK1/2. Aktivasi tersebut mengakibatkan terjadinya stres retikulum endoplasma (RE) dan menginduksi autofagi. Induksi autofagi dalam sel menghambat proses apoptosis dan kematian sel. Lebih lanjut, adanya kondisi stres RE yang berkepanjangan dapat merangsang respon imun dengan mengaktifasi signal Bax yang dapat memediasi apoptosis hingga kematian sel. Selain itu, deplesi arginin juga dapat menginduksi produksi ROS yang tinggi. Level ROS yang tinggi di dalam sel dapat mengganggu fungsi mitokondria dan integritas DNA dalam sel kanker. ROS ini dapat menginduksi *caspase 3/9* yang menyebabkan terjadinya apoptosis dan kematian sel (Gambar 1; Wang *et al.*, 2021). Penggunaan arginase dengan obat kemoterapi kanker seperti klorokuin dapat bersifat sinergis, karena obat kemoterapi kanker merupakan inhibitor autofagi yang dapat mengaktifasi *tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) sehingga dapat memicu apoptosis sel (Leung *et al.*, 2019).

Pengembangan arginase untuk menurunkan arginin ekstraseluler dimulai ketika arginase dipurifikasi dari hati lembu dengan presipitasi (Bach *et al.*, 1963). Setelah itu, penelitian tentang anti-proliferasi sel kanker menunjukkan bahwa arginase murni dapat menyebabkan penurunan pertumbuhan kanker hingga 77% (Bach *et al.*, 1963). Pengembangan selanjutnya yaitu *recombinant human arginase 1* (rhArg) (*liver arginase*) yang digunakan untuk pengobatan hiperarginemia. Pemberian rhArg tersebut tidak menimbulkan respon imunologis dan dengan pemberian rhArg dapat mengurangi tingkat Arg di dalam serum. Pengujian pada *hepatocellular cancer* (HCC) *in vitro* menunjukkan bahwa rhArg memiliki aktivitas antitumor (Cheng *et al.*, 2007). Namun, rhArg masih gagal digunakan secara klinis karena memiliki beberapa kelemahan, diantaranya yaitu tidak adanya efek antikanker yang signifikan pada model percobaan hewan kecil di awal, afinitas yang rendah terhadap arginin, adanya toksisitas karena akumulasi ornitin, memiliki waktu paruh pendek ($t_{1/2} < 30$ menit), dan memiliki pH optimal yang tinggi (9,4) sehingga tidak stabil dalam darah pasien dengan pH 7,4 (Patil *et al.*, 2016).

Berbagai kekurangan tersebut dapat diatasi dengan *PEGylation-rhArg* dan mengganti ion mangan dengan kobalt pada rhArg serta mengikatnya secara kovalen pada polimer. *PEGylated arginase* yang paling populer dan paling berkembang secara klinis

adalah rhArg1-PEG-500mw atau disebut juga dengan BCT-100 yang merupakan *PEGylated recombinant mutant human arginase 1* dengan 5 kDa polietilen glikol. Adanya modifikasi residu sistein pada posisi 45, 168, dan 303 dari sekuens arginase 1 *wild type* dapat meningkatkan aktivitas katabolik BCT-100 untuk arginin (K_m 6,0 mmol/L). Selain itu, konjugasi rhArg1 dengan PEG500 pada residu sistein 303 menunjukkan terjadinya penurunan laju klirens dan perpanjangan waktu paruh BCT-100 hingga 12 jam (Fultang *et al.*, 2016).

Pengujian praklinis BCT-100 telah dilakukan untuk pengobatan beberapa kanker seperti sarkoma (Choy *et al.*, 2015) dan leukemia limfoblastik akut (De Santo *et al.*, 2018). Selain itu, BCT-100 juga telah berhasil melalui uji klinis fase I dan II terhadap HCC pada manusia (Yau *et al.*, 2013; Yau *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, diketahui bahwa BCT-100 dapat menghambat proliferasi tumor dengan OTC negatif atau ASS1 negatif seperti HCC dan leukemia myeloid akut *in vitro* dan *in vivo* tanpa memberikan efek toksik dan menimbulkan respon imun. Manfaat BCT-100 tersebut dapat disebabkan oleh adanya peningkatan waktu paruh dan peningkatan kapasitas deplesi arginin (Fultang *et al.*, 2016). *PEGylated* arginase yang juga dikembangkan untuk terapi pada kanker adalah rhArg1[Co²⁺]PEG5000. Pada bentuk arginase ini, gugus logam Mn²⁺ enzim diganti dengan Co²⁺. Pada dasarnya, enzim arginase manusia membutuhkan ion Mn²⁺ untuk mengkoordinasikan serangan nukleofilik dan hidrolisis arginin oleh molekul air. Namun bentuk Mn-rhArg1 memiliki aktivitas yang minimal karena pH optimum yang tinggi (sekitar 9,5), K_M tinggi (2,3 mM), dan stabilitas yang rendah ($t_{1/2}$ sekitar 4,8) (Stone *et al.*, 2010; Stone *et al.*, 2010). Penggantian ion Mn²⁺ dengan Co²⁺ dapat menggeser ketergantungan pH optimal arginase dari 8,5 menjadi 7,5 dan meningkatkan aktivitas katalitik secara keseluruhan. Selain itu, juga dapat meningkatkan waktu paruh arginase dari 4,8 menjadi 6,1 jam karena adanya peningkatan ukuran molekul sehingga lebih sedikit mengalami filtrasi dalam glomerulus (Fultang *et al.*, 2016). Penggantian logam tersebut juga meningkatkan sifat antikanker *in vitro* (Chung *et al.*, 2020). Namun, *PEGylated* bentuk enzim yang dimodifikasi (rh-Arg1-[Co21]-PEG5000) menunjukkan sitotoksitas terhadap sel non kanker primer sehingga dapat mengurangi potensi klinisnya pada manusia (Agrawal *et al.*, 2012).

Pengembangan terapi arginase lainnya yaitu dengan penggabungan atau fusi *recombinant human arginase 1* (rhArg1) dengan bagian F_c imunoglobulin (IgG) (rhArg-F_c). Tujuan dari fusi protein tersebut untuk meningkatkan waktu paruh dan menurunkan imunogenisitas terapi (Li *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Li *et al.*

(2013), rhArg-F_c memiliki waktu paruh hingga 4 hari. rhArg-F_c juga efektif menghambat pertumbuhan sel kanker dan menyebabkan penurunan ukuran tumor sekitar 60% pada tikus yang diimplan dengan sel kanker Huh7 (Li *et al.*, 2013). Namun, penelitian terkait rhArg-F_c atau fusi rhArg dengan protein lainnya untuk terapi kanker masih sangat terbatas sehingga diperlukan pengembangan dan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efikasi maupun keamanannya.

Berdasarkan keterangan di atas, pengembangan enzim arginase untuk terapi kanker telah menunjukkan hasil yang positif. Meskipun demikian, berbagai pengujian dan pengembangan masih perlu dilakukan untuk membuktikan efikasi dan keamanan enzim ini. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan produksi dan formulasi enzim ini untuk penggunaan sebagai terapi kanker.

3.2 Produksi, optimasi, dan purifikasi arginase

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nadaf *et al.* (2019), bakteri genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari sampel tanah mampu memproduksi arginase dengan aktivitas sebesar 34,86 U/mL selama 24 jam. Isolat difermentasi dalam media glukosa 1%; pepton 0,5%; yeast extract 0,5%; K₂HPO₄ 0,1%; dan arginin pH 7 0,5%; serta diinkubasi dengan kecepatan 120 rpm dengan suhu 37°C selama 96 jam. Melalui karakterisasi molekular dengan sekuensing gen 16s rRNA didapatkan bahwa organisme tersebut merupakan *Pseudomonas sp. strain PV1* (Nadaf *et al.*, 2019).

Optimasi yang perlu diperhatikan dalam produksi arginase di antaranya yaitu sumber karbon, sumber nitrogen, konsentrasi arginin, dan kondisi percobaan meliputi pH, suhu, waktu inkubasi, dan agitasi. Maltosa merupakan sumber karbon terbaik dalam produksi arginase (81,40±0,41 U/mL), diikuti oleh sukrosa, fruktosa, glukosa, dan xilosa. Sumber nitrogen terbaik adalah pepton (98,20±0,21 U/mL), diikuti oleh amonium klorida dan tripton (Nadaf & Vedamurthy, 2020). Tiap sumber memiliki pH optimum yang bervariasi, hal tersebut terjadi karena perbedaan penggunaan media fermentasi yang mengakibatkan perbedaan komposisi nutrisi. Perbedaan kondisi optimum arginase pada tiap sumber telah dirangkum dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kondisi optimum produksi arginase

Sumber arginase	pH optimum	Suhu optimum (°C)	Referensi
<i>Pseudomonas sp</i>	8,5	37	(Nadaf <i>et al.</i> , 2019)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	sedikit asam	55	(Benucci <i>et al.</i> , 2017)
<i>Aspergillus niger</i>	9	40	(Moradi <i>et al.</i> , 2021)
<i>Rummeliibacillus pycnus</i>	9,5	80	(Huang <i>et al.</i> , 2016)

3.3 Karakterisasi arginase

Karakterisasi yang dilakukan oleh Huang *et al.* (2016) menunjukkan bahwa arginase dari *R. pycnus* memiliki sisi aktif dengan 6 asam amino residu (D123, H125, D228, D230, H100, dan D127) yang terikat dalam dua ion mangan. Arginase tersebut berbentuk heksamer dengan berat molekul sub unit sebesar 33 kDa dan berat molekul total sebesar 195 kDa. Arginase dari *R. pycnus* bersifat termostabil dengan suhu optimal pada 80°C dan aktivitasnya tertahankan hingga 85% setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 40-50°C. Aktivitas dari arginase *R. pycnus* optimal pada pH 9,5. Melalui persamaan *Michaelis-Menten* didapatkan nilai K_m sebesar 0,212 mM dan *catalytic efficiency* (kcat/ K_m) sebesar 2970 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$.

3.4 Formulasi arginase

Pengembangan arginase menjadi sebuah formulasi terapi masih jarang ditemui. Salah satu pengembangan arginase yang telah banyak diuji sebagai antikanker, yaitu rhArg1-PEG-500mw. Formulasi rhArg1-PEG-500mw diawali dengan produksi 6xHis-tagged human arginase I (liver arginase) dalam *Bacillus subtilis* untuk memperoleh *native recombinant human arginase 1* (rhArg1). Selanjutnya enzim dipurifikasi dengan kromatografi kolom (*nickle affinity*) dan diperoleh ~100 mg *native* rhArg1 (kemurnian >95%) per liter. *Native* rhArg1 yang diperoleh memiliki berat molekul sekitar ~35 kDa ketika dianalisis dengan SDS-PAGE. Kemudian, *native* rhArg1 dikonjugasikan dengan molekul PEG (MPEG-SPA) yang memiliki berat molekul 5000 dalam buffer PBS (pH 7,4). Rasio molar protein:PEG yang digunakan adalah 1:50. Sampel diaduk pada suhu 25°C selama 3 jam supaya molekul PEG dapat bereaksi dengan rhArg1. Selanjutnya rhArg1 *PEGylation* dianalisis dengan SDS-PAGE, dan konsentrasi protein ditentukan dengan *Bradford assay*. Produk yang dihasilkan, didialisis menggunakan FX 50 s *high-flux dialyzer* untuk menghilangkan molekul PEG yang tidak terikat dengan protein, lalu disimpan pada suhu 4°C.

Pengembangan enzim arginase lain sebagai terapi kanker yaitu enkapsulasi arginase rekombinan. Formulasi yang dikembangkan oleh Moradi *et al.* (2021) adalah enkapsulasi arginase rekombinan dengan potensi sebagai *targeted cancer therapy* melalui kappa-karagen *crosslinked magnetic folic acid-conjugated chitosan nanocomposites*. Produksi dilakukan dengan memperoleh arginase dari *A. niger* lalu dikultur dalam *Pichia pastoris* dalam 1% yeast extract, 1% tripton, dan 2% glukosa. Purifikasi dilakukan menggunakan *nickel-nitrilotriacetic acid (Ni-NTA) resin*. Kappa-karagenan digunakan

sebagai *crosslinker* dan pembentuk formasi interaksi elektrostatik antara *magnetic chitosan* dan *kappa*-karagenan sehingga enzim dapat termobilisasi menuju *carrier*. Setelah enzim dimobilisasi, ukuran partikel *carrier* meningkat menjadi 90-150 nm. Suhu dan pH optimum dari *carrier* yang telah terisi enzim tersebut adalah 40°C dan pH 9 (Moradi *et al.*, 2021).

4. Kesimpulan

Arginase memiliki potensi antikanker melalui aktivitasnya dalam deplesi asam amino arginin sel kanker auksotrof. Hal ini menyebabkan proliferasi sel kanker tidak dapat berlangsung karena kekurangan asam amino tersebut. Pengembangan arginase untuk terapi kanker terus dilakukan, mulai dari pengembangan *recombinant human arginase 1* (rhArg1) hingga *PEGylated arginase*. Namun, pengembangan untuk formulasi arginase sendiri masih belum banyak ditemui dan masih diperlukan berbagai tahapan uji klinis lebih lanjut.

Daftar pustaka

- Agrawal V., Woo J.H., Mauldin J.P., Jo C., Stone E.M., Georgiou G., & Frankel A.E. (2012). Cytotoxicity of Human Recombinant Arginase I (Co)-PEG5000 In The Presence of Supplemental L-Citrulline Is Dependent On Decreased Argininosuccinate Synthetase Expression In Human Cells. *Anti-Cancer Drugs*, 23(1), 51–64. <https://doi.org/10.1097/CAD.0b013e32834ae42b>
- Anakha J., Kawathe P.S., Datta S., Jawalekar S.S., Banerjee U.C., & Pande A.H. (2022). Human Arginase 1, A Jack of All Trades?. *3 Biotech*, 12(264), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03326-9>
- Bach S., Hawkins R., & Swaine D. (1963). A Short Method for the Purification of Arginase from Ox Liver. *Biochemical Journal*, 89, 263–265. <https://doi.org/10.1042/bj0890263>
- Benucci I., Fiorelli V., Lombardelli C., Liburdi K., & Esti M. (2017). Corrigendum to Kinetic Characterization of Arginase From *Saccharomyces Cerevisiae* During Alcoholic Fermentation At Different Temperatures. *LWT-Food Science and Technology*, 84, 876. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.056>
- Bhatta A., Yao L., Xu Z., Toque H.A., Chen J., Atawia R.T., Fouda A.Y., Bagi Z., Lucas, R., Caldwell R.B., & Caldwell R.W. (2017). Obesity-Induced Vascular Dysfunction and Arterial Stiffening Requires Endothelial Cell Arginase 1. *Cardiovascular Research*, 113(13), 1664–1676. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx164>
- Caldwell R.B., Toque H.A., Narayanan S.P., & Caldwell R.W. (2015). Arginase: An Old Enzyme With New Tricks. *Trends Pharmacological Sciences*, 36(6), 395–405. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.03.006>
- Cheng P.N.-M., Lam T.-L., Lam W.-M., Tsui S.-M., Cheng A.W.-M., Lo W.-H., Leung Y.-C. (2007). Pegylated Recombinant Human Arginase (rhArg-peg5,000mw) Inhibits the In vitro and In vivo Proliferation of Human Hepatocellular Carcinoma through Arginine Depletion. *Cancer Research*, 67,(1) 309–317. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-1945>
- Choy C.T., Cheong H.T., U K.P., Wong C.H., & Loong H.H.F. (2015). Preclinical Evaluation of The Recombinant Human Arginase PEG-BCT-100 leading To Arginine Deprivation In

- Sarcomas. *Cancer Research*, 75, 5512–5512. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2015-5512>
- Chung S.F., Kim C.F., Tam S.Y., Choi M.C., So P.K., Wong K.Y., Leung Y.C., & Lo W.H. (2020). A Bioengineered Arginine-Depleting Enzyme As A Long-Lasting Therapeutic Agent Against Cancer. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(9), 3921–3934. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10484-4>
- De Santo C., Booth S., Vardon A., Cousins A., Tubb V., Perry T., Noyvert B., Beggs A., Ng M., Halsey C., Kearns P., Cheng P., & Mussai F. (2018). The Arginine Metabolome In Acute Lymphoblastic Leukemia Can Be Targeted By The Pegylated-Recombinant Arginase I BCT-100. *International Journal of Cancer*, 142(7), 1490–1502. <https://doi.org/10.1002/ijc.31170>
- FDA, 2022. *Fda Approves Asparaginase Erwinia Chrysanthemi (Recombinant) for Leukemia and Lymphoma* URL <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-asparaginase-erwinia-chrysanthemi-recombinant-leukemia-and-lymphoma> (accessed 6.18.22).
- Fultang L., Vardon A., De Santo C., & Mussai F. (2016). Molecular Basis and Current Strategies of Therapeutic Arginine Depletion For Cancer. *International Journal of Cancer*, 139(3), 501–509. <https://doi.org/10.1002/ijc.30051>
- Huang K., Zhang T., Jiang B., Mu W., & Miao M. (2016). Characterization of A Thermostable Arginase From *Rummeliibacillus pycnus* SK31.001. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 133, 568–575. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.11.020>
- Hung Y.-H., Huang H.-L., Chen W.-C., Yen M.-C., Cho C.-Y., Weng T.-Y., Wang C.-Y., Chen Y.-L., Chen L.-T., & Lai M.-D. (2017). Argininosuccinate Lyase Interacts With Cyclin A2 In Cytoplasm and Modulates Growth of Liver Tumor Cells. *Oncology Report*, 37(2), 969–978. <https://doi.org/10.3892/or.2016.5334>
- Kumari N., & Bansal S. (2021). Arginine Depriving Enzymes: Applications As Emerging Therapeutics In Cancer Treatment. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 88(4), 565–594. <https://doi.org/10.1007/s00280-021-04335-w>
- Leung S.L., Ho M.K., Lam Y.M., Chow H.Y., So Y.H., & Leung Y.C. (2019). PEGylated Recombinant Human Arginase As A Drug For Breast Cancer. *Hong Kong Med J*, 25(6), 28–31.
- Li L., Wang Y., Chen J., Cheng B., Hu J., Zhou Y., Gao X., Gao L., Mei X., Sun M., Zhang Z., & Song H. (2013). An Engineered Arginase FC Protein Inhibits Tumor Growth In Vitro and In Vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/423129>
- Moradi R., Mohammadzadeh R., & Akbari A. (2021). Kappa-Carrageenan Crosslinked Magnetic Folic Acid-Conjugated Chitosan Nanocomposites for Arginase Encapsulation, Delivery and Cancer Therapy. *Nano Life*, 11(3), 2140005.
- Nadaf P., & Vedamurthy A.B. (2020). Optimization Of L-arginase Production By *Pseudomonas* Sp. Strain PV1 Under Submerged Fermentation. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 9(1), 4390–4395.
- Nadaf P.D., Kulkarni A.G., & Vedamurthy A.B. (2019). Isolation, Screening and Characterization of L-Arginase Producing Soil Bacteria. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(7), 3440–3444. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(7\).3440-44](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(7).3440-44)
- Global Observatory Cancer (GCO). (2022). *Estimated Number of New Cases in 2020, All Cancers, Both Sexes*
- Pandey D., Bhuni, A., Oh Y.J., Chang F., Bergman Y., Kim J.H., Serbo J., Boronina T.N., Cole R.N., Van Eyk J., Remaley A.T., Berkowitz D.E., & Romer L.H. (2014). OxLDL Triggers Retrograde Translocation of Arginase2 in Aortic Endothelial Cells via ROCK and Mitochondrial Processing Peptidase. *Circulation Research*, 115(4), 450–459.

- <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.304262>
- Patil M.D., Bhaumik J., Babykutty S., Banerjee U.C., & Fukumura D. (2016). Arginine Dependence of Tumor Cells: Targeting A Chink In Cancer's Armor. *Oncogene*, 35(38), 4957–4972. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.37>
- Schlune A., Vom Dahl S., Häussinger D., Ensenaer R., & Mayatepek E. (2015). Hyperargininemia Due To Arginase I Deficiency: The Original Patients and Their Natural History, and A Review of The Literature. *Amino Acids* 47(9), 1751–1762. <https://doi.org/10.1007/s00726-015-2032-z>
- Stone E., Chantranupong L., Gonzalez C., O'Neal J., Rani M., Vandenberg C., & Georgiou G. (2012). Strategies For Optimizing The Serum Persistence of Engineered Human Arginase I For Cancer Therapy. *Journal of Controlled Release*, 158(1), 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.09.097>
- Stone E.M., Glazer E.S., Chantranupong L., Cherukuri P., Breece R.M., Tierney D.L., Curley S.A., Iverson B.L., & Georgiou G. (2010). Replacing Mn²⁺ with Co²⁺ in Human Arginase I Enhances Cytotoxicity Towards L-Arginine Auxotrophic Cancer Cell Lines. *ACS Chemical Biology*, 5(3), 333–342. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2006.05.022>
- Vardon A., Dandapani M., Cheng D., Cheng P., De Santo C., & Mussai F. 2017. Arginine Auxotrophic Gene Signature In Paediatric Sarcomas and Brain Tumours Provides A Viable Target For Arginine Depletion Therapies. *Oncotarget*, 8(38), 63506–63517. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18843>
- Wang Z., Xie Q., Zhou H., Zhang M., Shen J., & Ju D. (2021). Amino Acid Degrading Enzymes and Autophagy in Cancer Therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.582587>
- Xiong Y., Yepuri G., Forbitech M., Yu Y., Montani J.-P., Yang Z., & Ming X.-F. (2014). ARG2 Impairs Endothelial Autophagy Through Regulation of MTOR and PRKAA/AMPK Signaling In Advanced Atherosclerosis. *Autophagy*, 10(12), 2223–2238. <https://doi.org/10.4161/15548627.2014.981789>
- Yau T., Cheng P.N., Chan P., Chan W., Chen L., Yuen J., Pang R., Fan S.T., & Poon R.T. (2013). A Phase 1 Dose-Escalating Study of Pegylated Recombinant Human Arginase 1 (Peg-rhArg1) In Patients With Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Investigational New Drugs*, 31(1), 99–107. <https://doi.org/10.1007/s10637-012-9807-9>
- Yau T., Cheng P.N., Chan P., Chen L., Yuen J., Pang R., Fan S.T., Wheatley D.N., & Poon R.T. (2015). Preliminary Efficacy, Safety, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Quality of Life Study of Pegylated Recombinant Human Arginase 1 In Patients With Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Investigational New Drugs*, 33(2), 496–504. <https://doi.org/10.1007/s10637-014-0200-8>
- Zou S., Wang X., Liu P., Ke C., & Xu S. (2019). Arginine Metabolism and Deprivation In Cancer Therapy. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 118, 109210. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109210>
- Zugazagoitia J., Guedes C., Ponce S., Ferrer I., Molina-Pinelo S., & Paz-Ares L. (2016). Current Challenges in Cancer Treatment. *Clinical Therapeutics*, 38(7), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.03.026>