

Analisis *In Silico* Tiga Varian of Uncertain Significance (VUS) pada Gen *BRCA1* melalui Pendekatan BLASTp, Multiple Sequence Alignment, dan Filogenetik

Fathiya Najwa Aziza¹, Fernanda Nathalien Haribu Peramu¹, Maeizatul Khusni Qamar¹, Faturrahman², Sarkono^{2*}

¹ Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Indonesia.

² Laboratorium Teknologi Mikrob, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Indonesia.

Article Info :

Received : Maret 07, 2026
Revised : April 12, 2026
Accepted : April 20, 2026
Published : Mei 27, 2026

Corresponding Author:

Sarkono
sarkonobiologi@gmail.com

DOI:

<https://doi.org/10.29303/ewwv1018>

Keyword:

BRCA1; Variant of Uncertain Significance; In Silico; Residue Conservation; Blastp; Phylogenetic Analysis

Abstract :

The *BRCA1* gene plays a critical role in maintaining genomic stability through DNA damage repair; therefore, mutations in this gene may increase the risk of breast and ovarian cancers. Numerous novel variants identified through sequencing are classified as Variants of Uncertain Significance (VUS), referring to variants whose biological effects remain undetermined. This study evaluated the potential pathogenicity of three *BRCA1* VUSs using an *in silico* approach based on comparative protein sequence analysis. Three variants—p.Tyr1863Cys, p.Ser1180Arg, and p.Thr37Pro—were selected to represent mutations located in the C-terminus, central region, and N-terminus (RING domain), respectively. Wild-type *Homo sapiens* and mammalian ortholog protein sequences were retrieved from UniProt and aligned using MEGA to assess residue conservation, complemented by phylogenetic analysis to provide an evolutionary context. BLASTp was employed to assess sequence similarity and the homologous relationship between human *BRCA1* and its orthologs. The results revealed distinct patterns of residue conservation: p.Tyr1863Cys occurred at a residue with low conservation, p.Ser1180Arg at a highly conserved residue, and p.Thr37Pro at a completely conserved residue within the RING domain. Integration of evolutionary conservation, domain localization, and changes in the chemical properties of the substituted residues indicated that p.Thr37Pro had the highest potential pathogenicity, followed by p.Ser1180Arg and p.Tyr1863Cys. All findings are predictive and require further experimental validation.

How to Cite : Aziza, F. N., Peramu, F. N. H., Qamar, M. K., Faturrahman, & Sarkono. (2026). Analisis *In Silico* Tiga Varian of Uncertain Significance (VUS) pada Gen *BRCA1* melalui Pendekatan BLASTp, Multiple Sequence Alignment, dan Filogenetik. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Conservation*, 2(2), 89-100. <https://doi.org/10.29303/ewwv1018>

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan salah satu penyakit keganasan dengan tingkat kejadian tinggi secara global. Pada tahun 2022, kanker paru-paru menjadi kanker yang paling sering didiagnosis secara keseluruhan. Kanker payudara wanita menduduki peringkat kedua dengan menyumbang 11,6% dari seluruh kasus kanker baru di dunia, dan merupakan penyebab utama keempat kematian

akibat kanker secara global dengan 6,9% dari total kematian. Kanker payudara juga menjadi jenis kanker paling umum pada wanita di seluruh dunia, sehingga memerlukan perhatian dan penelitian berkelanjutan (Freddie dkk., 2024). Relevansi ini diperkuat oleh fakta bahwa sebagian besar kasus kanker payudara memiliki komponen genetik, salah satunya berkaitan dengan mutasi pada gen Breast Cancer 1 (*BRCA1*). Gen *BRCA1* mengkode protein penekan tumor yang berperan menjaga stabilitas

genom melalui mekanisme perbaikan kerusakan untai ganda DNA (double-strand break) menggunakan jalur rekombinasi homolog. Mutasi atau defisiensi pada gen ini menghambat proses perbaikan DNA secara tepat, sehingga meningkatkan akumulasi kerusakan genetik dan risiko terjadinya kanker payudara maupun ovarium (Takoka dan Miki, 2018).

Seiring kemajuan teknologi sekuensing, banyak varian baru pada gen *BRCA1* berhasil diidentifikasi. Namun, sebagian besar masih tergolong sebagai Variant of Uncertain Significance (VUS), yaitu varian dengan dampak biologis yang belum diketahui secara pasti. Keberadaan VUS ini menjadi tantangan klinis karena menyulitkan penentuan risiko kanker serta pengambilan keputusan dalam konseling genetik dan manajemen pencegahan (Huszno dkk., 2021). Untuk mengatasi hal tersebut, diperlukan interpretasi varian yang ketat berdasarkan kriteria konsensus yang telah distandardisasi, seperti panduan dari American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) dan Association for Molecular Pathology (AMP) (Richards dkk., 2015). Salah satu pendekatan penting dalam klasifikasi ini ialah analisis *in silico* yang memanfaatkan model komputasi untuk memperkirakan efek varian terhadap fungsi protein (Hart dkk., 2019).

Berbagai studi *in silico* pada gen *BRCA1* telah berfokus pada integrasi multi-predictor, analisis struktural, dan pendekatan evolusioner lintas spesies (Hart dkk., 2019). Namun, analisis konservasi residu berbasis penyelarasan sekuens dengan ortholog mamalia serta evaluasi kesamaan sekuens melalui BLASTp masih jarang digunakan sebagai pendekatan utama dalam interpretasi VUS, meskipun analisis sekuens lintas spesies telah lama menjadi dasar untuk memahami pentingnya suatu residu dalam konteks evolusi (Padilla dkk., 2019).

Pendekatan ini memberikan informasi fundamental mengenai apakah suatu posisi asam amino dipertahankan atau toleran terhadap perubahan, sehingga menjadi langkah awal yang informatif sebelum dilakukan prediksi berbasis struktur atau uji eksperimental lanjutan. Dengan demikian, penelitian ini berupaya mengisi celah penelitian yang tersedia dengan mengevaluasi tiga VUS *BRCA1* melalui pendekatan komparatif

berbasis sekuens yang mencakup BLASTp, penyelarasan sekuens lintas spesies, dan analisis filogenetik.

Pendekatan ini memungkinkan penilaian posisi mutasi terhadap domain fungsional *BRCA1* sekaligus tingkat konservasi evolusionernya. Integrasi informasi ini diharapkan dapat memberikan gambaran awal mengenai potensi patogenisitas varian sebelum dilakukan validasi eksperimental lebih lanjut.

BAHAN DAN METODE

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan pendekatan *in silico* yang bertujuan menganalisis tiga Varian of Uncertain Significance (VUS) pada gen *BRCA1*. Analisis dilakukan melalui perbandingan sekuens protein Wild Type dan varian mutannya bersama sekuens ortholog *BRCA1* dari beberapa spesies mamalia.

Sumber Data

Data sekunder diperoleh dari dua basis data publik, yaitu UniProt untuk sekuens protein *BRCA1* referensi manusia serta ortholog mamalia dan ClinVar untuk pemilihan varian VUS beserta notasi mutasinya. Informasi tambahan seperti domain fungsional dan posisi residu dikonfirmasi melalui UniProt.

Alat dan Perangkat

Perangkat yang digunakan dalam penelitian ini mencakup MEGA untuk penyelarasan sekuens dan pembuatan pohon filogenetik, Notepad++ untuk penyuntingan serta pengelolaan file FASTA, serta NCBI BLASTp untuk analisis kesamaan sekuens protein. Hasil penyelarasan sekuens kemudian diinterpretasikan dengan bantuan ESPript 3.2 dan dimasukkan ke dalam bagian hasil, sedangkan keluaran BLASTp diringkas dalam bentuk tabel.

Tahapan Analisis

Tahapan penelitian meliputi: (1) pemilihan tiga varian Variant of Uncertain Significance (VUS) pada gen *BRCA1* berdasarkan data ClinVar; (2) pengambilan sekuens protein *BRCA1* Wild Type

(WT) manusia dari UniProt;(3) pembuatan sekuens protein mutan secara *in silico* dengan mengganti residu asam amino sesuai ketiga varian;(4) pengambilan sekuens ortholog BRCA1 dari spesies mamalia melalui UniProt;(5) penyelarasan sekuens WT, mutan, dan ortholog menggunakan Multiple Sequence Alignment (MSA) dengan MEGA untuk mengevaluasi tingkat konservasi residu pada posisi mutasi;(6) perbandingan tingkat homologi dan kesamaan sekuens antarspesies menggunakan BLASTp, untuk mendukung interpretasi konservasi berdasarkan nilai identity, query coverage, dan E-value;(7) pembuatan pohon filogenetik menggunakan MEGA, untuk memvisualisasikan hubungan evolusioner antarspesies yang dianalisis;(8) analisis posisi mutasi terhadap domain fungsional BRCA1 berdasarkan anotasi struktur domain pada UniProt;(9) kompilasi hasil dalam bentuk tabel, gambar filogenetik, dan visualisasi alignment untuk digunakan pada tahap interpretasi akhir.

Analisis dan Interpretasi Hasil

Interpretasi hasil dilakukan dengan menggabungkan empat komponen utama analisis, yaitu pola konservasi residu dari MSA, tingkat kesamaan sekuens berdasarkan nilai identity BLASTp, hubungan evolusioner dari pohon filogeni, serta dampak perubahan kimiawi residu pada tiap varian. MSA menunjukkan apakah residu mutasi berada pada posisi yang toleran atau kritis secara evolusi, sementara analisis BLASTp dan filogeni memberikan konteks kedekatan antarspesies yang mendukung pola konservasi tersebut.

Evaluasi sifat kimiawi mutasi kemudian digunakan untuk menilai potensi gangguan struktural pada protein, terutama bila perubahan residu terjadi pada domain fungsional. Dengan demikian, interpretasi potensi patogenisitas setiap VUS didasarkan pada integrasi konservasi lintas spesies, relevansi domain tempat mutasi terjadi, serta sifat perubahan residu, sehingga menghasilkan prediksi *in silico* yang menyeluruh mengenai kemungkinan dampaknya terhadap fungsi BRCA1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Deskripsi Umum Analisis

Analisis ini bertujuan untuk memprediksi potensi patogenisitas dari tiga VUS pada gen *BRCA1*. Ada tiga varian yang dipilih, yaitu NM_007294.4(*BRCA1*):c.5588A>G(p.Tyr1863Cys) yang selanjutnya disebut sebagai VUS1, NM_007294.4(*BRCA1*):c.3540C>A(p.Ser1180Arg) yang selanjutnya disebut sebagai VUS2, dan NM_007294.4(*BRCA1*):c.109A>C (p.Thr37Pro) yang selanjutnya disebut sebagai VUS3. Varian-varian ini secara strategis dipilih karena mewakili mutasi di bagian akhir (VUS1, pada C-terminus tail), tengah (VUS2, pada Residu Batas Struktural), dan awal (VUS3, pada N-Terminus, tepatnya Zinc Finger RING-Type).

Untuk membandingkan residu asam amino normal manusia dengan residu mutan pada VUS, sekuens protein mutan dianalisis bersama 22 sekuens ortholog *BRCA1* dari berbagai spesies mamalia, yang dipilih untuk mewakili tingkat kekerabatan evolusioner yang berbeda. Kelompok primata, yang paling dekat dengan manusia, meliputi *Pan troglodytes*, *Gorilla gorilla*, *Pongo abelii*, *Macaca mulatta*, *Papio anubis*, *Saimiri boliviensis boliviensis*, dan *Callithrix jacchus*. Kelompok mamalia non-primata, yang lebih jauh secara evolusi, terdiri dari *Balaenoptera musculus*, *Marmota monax*, *Equus caballus*, *Felis catus*, *Tursiops truncatus*, *Canis lupus familiaris*, *Sus scrofa*, *Gulo gulo luscus*, *Ovis aries*, *Bos taurus*, *Capra hircus*, *Phodopus roborovskii*, *Rattus norvegicus*, dan *Mus musculus*. Mamalia non-plasenta yang paling jauh dari manusia diwakili oleh *Monodelphis domestica*. Semua sekuens ortholog diperoleh dari UniProt. Pendekatan ini memungkinkan penilaian konservasi evolusioner *BRCA1*, sehingga posisi residu yang tetap dipertahankan sepanjang evolusi dapat diidentifikasi sebagai indikasi fungsinya yang penting secara biologis.

Selanjutnya, Multiple Sequence Alignment (MSA) dilakukan menggunakan perangkat lunak seperti BioEdit untuk mengevaluasi tingkat konservasi residu pada posisi p.1863, p.1180, dan p.37. Tingkat konservasi ini menjadi indikator kuat potensi patogenisitas; mutasi pada residu yang sangat konservatif lebih mungkin mengganggu fungsi esensial protein. Interpretasi konservasi ini juga diperkuat dengan informasi hubungan

evolusioner antarspesies yang diperoleh dari pohon filogenetik BRCA1 yang dibangun menggunakan MEGA, sehingga pola konservasi yang terlihat pada MSA dapat dikaitkan dengan kedekatan atau jarak evolusi antarorganisme.

Hasil Multiple Sequence Alignment (MSA) Analisis Konservasi Residu pada VUS1

```
BRCA1_WT          SHY....
BRCA1_p.Tyr1863Cys_Human_mutant SHC....
BRCA1_p.Ser1180Arg_Human_mutant SHY....
BRCA1_p.Thr37Pro_Human_mutant SHY....
BRCA1_Pan_troglodytes SHY....
BRCA1_Gorilla_gorilla SHY....
BRCA1_Pongo_abelii SHY....
BRCA1_Macaca_mulatta SHY....
BRCA1_Papio_anubis SHY....
BRCA1_Saimiri_boliviensis_boliviensis SHY....
BRCA1_Callithrix_jacchus SHY....
BRCA1_Canis_lupus_familiaris TCY....
BRCA1_Felis_catus ACV....
BRCA1_Gulo_gulo_luscus ACV....
BRCA1_Bos_taurus .....
BRCA1_Ovis_aries SCC....
BRCA1_Capra_hircus SCC....
BRCA1_Sus_scrofa SCCRPCT
BRCA1_Equus_caballus P.....
BRCA1_Marmota_monax SHC....
BRCA1_Mus_musculus DND....
BRCA1_Rattus_norvegicus DND....
BRCA1_Phodopus_roborovskii NN....
BRCA1_Tursiops_truncatus ACT....
BRCA1_Balaenoptera_musculus SCC....
BRCA1_Monodelphis_domestica LC....
consensus> 70 .....
```

Gambar 1. Multiple Sequence Alignment untuk VUS1 (p.Tyr1836Cys). Alignment dilakukan menggunakan MUSCLE di MEGA untuk membandingkan sekuens lintas spesies. Hasilnya kemudian divisualisasikan melalui ESPript dengan threshold konservasi 0.7 agar residu terjaga terlihat jelas. Warna dan simbol ditampilkan sesuai pengaturan default ESPript.

Pada posisi VUS1, residu pada posisi yang ditandai dalam blok hitam menunjukkan bahwa secara keseluruhan posisi ini tidak termasuk residu yang terkonservasi secara global. Hal ini ditunjukkan oleh simbol consensus berupa titik, yang menandakan bahwa tidak terdapat satu jenis residu yang secara konsisten dipertahankan pada mayoritas spesies dalam alignment. Meskipun demikian, pola konservasi yang lebih jelas terlihat ketika analisis difokuskan pada kelompok primata, yaitu kelompok organisme yang secara filogenetik paling dekat dengan manusia. Hampir seluruh spesies primata dalam alignment menunjukkan residu yang identik pada posisi tersebut (umumnya

Y), yang menandakan bahwa posisi ini sangat terkonservasi dalam clade primata. Konservasi yang kuat pada kelompok dekat ini mengindikasikan bahwa residu tersebut mengalami tekanan seleksi yang lebih besar pada garis keturunan primata dibandingkan mamalia lain yang lebih jauh secara evolusi.

Variasi residu pada posisi ini mulai tampak dengan jelas pada kelompok non-primata, di mana beberapa spesies seperti *Ovis aries*, *Capra hircus*, *Sus scrofa*, *Marmota monax*, *Balaenoptera musculus*, dan *Monodelphis domestica* menunjukkan keberadaan residu C pada posisi yang sama. Selain itu, sejumlah mamalia lainnya juga menampilkan substitusi ke residu berbeda, sehingga menghasilkan pola variasi yang cukup luas di luar kelompok primata. Keberadaan variasi tersebut mengonfirmasi bahwa pada tingkat mamalia secara keseluruhan, posisi ini memang tidak berada di bawah tekanan konservasi yang kuat. Pola konservasi yang tinggi pada primata dan variasi pada kelompok non-primata bersama-sama menunjukkan bahwa residu ini memiliki konservasi yang bersifat spesifik-clade, bukan konservasi universal di seluruh mamalia. Dengan demikian, perubahan yang terjadi pada posisi ini dalam konteks manusia perlu dipahami sebagai bagian dari pola konservasi yang lebih luas, yang mencerminkan kombinasi antara konservasi kuat pada kelompok dekat dan variabilitas yang cukup besar pada mamalia lain.

Pada posisi mutasi VUS2, residu pada posisi yang ditandai dalam blok hitam menunjukkan pola konservasi yang jauh lebih kuat dibandingkan dengan posisi lain yang bersifat variabel. Hampir seluruh spesies dalam alignment mempertahankan residu yang sama, yaitu S (Serine), pada posisi tersebut. Hal ini mengindikasikan bahwa residu ini berada pada segmen yang sangat stabil secara evolusioner, sehingga jarang mengalami substitusi sepanjang divergensi mamalia. Konsistensi residu S yang hampir universal ini terlihat dalam berbagai taksa, termasuk primata, karnivora, artiodaktil, rodensia, hingga mamalia laut. Hanya sedikit spesies yang menunjukkan variasi residu, dan satu-satunya substitusi alami yang terlihat adalah perubahan S menjadi N (Asparagine) pada beberapa spesies tertentu. Kedua residu ini memiliki

karakteristik serupa dalam hal polaritas, sehingga substitusi tersebut tergolong “konservatif” dan tidak mengganggu pola umum konservasi.

Analisis Konservasi Residu pada VUS2

	1180
BRCA1_WT	KES SAVFSKS
BRCA1_p.Tyr1863Cys_Human_mutant	KES SAVFSKS
BRCA1_p.Ser1180Arg_Human_mutant	KES SAVFSKR
BRCA1_p.Thr37Pro_Human_mutant	KES SAVFSKS
BRCA1_Pan_troglodytes	KES SAVFSKS
BRCA1_Gorilla_gorilla	KES SAVFSKN
BRCA1_Pongo_abelii	KES SAVFSKS
BRCA1_Macaca_mulatta	KES SAVFSKS
BRCA1_Papio_anubis	KES SAVFSKS
BRCA1_Saimiri_boliviensis_boliviensis	KETSAIFSKS
BRCA1_Callithrix_jacchus	KETSAIFSKS
BRCA1_Canis_lupus_familiaris	KEKSAVFSKS
BRCA1_Felis_catus	KES SAVFGKS
BRCA1_Gulo_gulo_luscus	KES SAVFSKN
BRCA1_Bos_taurus	KES SAVFSES
BRCA1_Ovis_aries	KES SAVFSES
BRCA1_Capra_hircus	KES SAVFSES
BRCA1_Sus_scrofa	KES SAVFSKS
BRCA1_Equus_caballus	KES SAVFSKS
BRCA1_Marmota_monax	KEKSAVFSKN
BRCA1_Mus_musculus	MERSAVFNKS
BRCA1_Rattus_norvegicus	TEKSAIFNKS
BRCA1_Phodopus_roborovskii	MEKSAVFNKS
BRCA1_Tursiops_truncatus	EERSAVFSKS
BRCA1_Balaenoptera_musculus	KES SAVFSKS
BRCA1_Monodelphis_domestica	KEQSAVFGKN
consensus> 70	kE.SA!FskS

Gambar 2. Multiple Sequence Alignment untuk VUS2 (p.Ser1880Arg). Alignment dilakukan menggunakan MUSCLE di MEGA untuk membandingkan sekuens lintas spesies. Hasilnya kemudian divisualisasikan melalui ESPript dengan threshold konservasi 0.7 agar residu terjaga terlihat jelas. Warna dan simbol ditampilkan sesuai pengaturan default ESPript.

Di luar substitusi kecil tersebut, tidak ditemukan variasi lain pada posisi ini. VUS2 merupakan satu-satunya substitusi yang mengubah residu terkonservasi S menjadi residu yang berbeda secara jelas, yaitu R (Arginine), yang tidak ditemukan pada spesies mana pun dalam alignment. Tingginya tingkat konservasi dan sangat terbatasnya variasi alami mendukung bahwa posisi ini berada di bawah tekanan seleksi kuat.

Analisis Konservasi Residu pada VUS3

Pada posisi mutasi VUS3, residu treonin (T) tampak terpelihara pada hampir seluruh spesies pembanding, dengan hanya satu pengecualian berupa gap pada *Sus scrofa*. Pola konservasi yang nyaris menyeluruh ini menunjukkan bahwa posisi tersebut tergolong fully conserved secara evolusioner, yang mengindikasikan pentingnya

residu treonin bagi stabilitas struktural ataupun fungsi molekuler domain N-terminal BRCA1.

Konservasi kuat ini juga sejalan dengan temuan terdahulu yang melaporkan bahwa sekitar 120 residu di wilayah N-terminus BRCA1, termasuk RING domain, menunjukkan tingkat identitas sekuens yang sangat tinggi (>80%) di antara mamalia (Szabo dkk., 1996). Ketidakhadiran substitusi alami lintas spesies pada posisi ini menandakan adanya intoleransi evolusioner yang kuat terhadap perubahan residu. Hal ini mengartikan bahwa setiap perubahan pada posisi ini, termasuk mutasi VUS3, berpotensi menimbulkan dampak fungsional yang signifikan.

	40
BRCA1_WT	IKEPVSTKCD
BRCA1_p.Tyr1863Cys_Human_mutant	IKEPVSTKCD
BRCA1_p.Ser1180Arg_Human_mutant	IKEPVSTKCD
BRCA1_p.Thr37Pro_Human_mutant	IKEPVSTKCD
BRCA1_Pan_troglodytes	IKEPVSTKCD
BRCA1_Gorilla_gorilla	IKEPVSTKCD
BRCA1_Pongo_abelii	IKEPVSTKCD
BRCA1_Macaca_mulatta	IKEPVSTKCD
BRCA1_Papio_anubis	IKEPVSTKCD
BRCA1_Saimiri_boliviensis_boliviensis	IKEPVSTKCD
BRCA1_Callithrix_jacchus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Canis_lupus_familiaris	IKEPVSTKCD
BRCA1_Felis_catus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Gulo_gulo_luscus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Bos_taurus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Ovis_aries	IKEPVSTKCD
BRCA1_Capra_hircus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Sus_scrofa	
BRCA1_Equus_caballus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Marmota_monax	IKEPVSTKCD
BRCA1_Mus_musculus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Rattus_norvegicus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Phodopus_roborovskii	IKEPVSTKCD
BRCA1_Tursiops_truncatus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Balaenoptera_musculus	IKEPVSTKCD
BRCA1_Monodelphis_domestica	IKEPVSTKCD
consensus> 70	ikepvstkc d

Gambar 3. Multiple Sequence Alignment untuk VUS3 (p.Thr37Pro). Alignment dilakukan menggunakan MUSCLE di MEGA untuk membandingkan sekuens lintas spesies. Hasilnya kemudian divisualisasikan melalui ESPript dengan threshold konservasi 0.7 agar residu terjaga terlihat jelas. Warna dan simbol ditampilkan sesuai pengaturan default ESPript.

Analisis Homologi dan Kualitas Alignment Berdasarkan BLASTp.

Hasil BLAST menunjukkan bahwa nilai Identity, Total Score, dan Max Score menurun secara bertahap seiring meningkatnya jarak evolusioner dari manusia, sehingga memberikan gambaran yang jelas tentang hubungan filogenetik antar spesies pembanding. Primata besar seperti Pan

troglodytes dan Gorilla gorilla menempati posisi teratas dengan identity lebih dari 98% dan skor alignment tertinggi, yang menunjukkan bahwa sekuens BRCA1 mereka hampir identik dengan manusia. *Pongo abelii*, *Macaca mulatta*, dan *Papio anubis* juga mempertahankan skor tinggi, meskipun

sedikit lebih rendah, sehingga tetap mencerminkan konservasi yang kuat dalam kelompok primata. Konsistensi nilai ini menegaskan bahwa domain-domain fungsional BRCA1 sangat terjaga di dalam garis keturunan primata.

Tabel 1. Hasil kesamaan sekuens BRCA1 manusia dengan ortholog mamalia berdasarkan BLASTp

Spesies	Identity(%)	Query Cover (%)	Total Score	Max Score	E-Value	Accession
<i>Pan troglodytes</i>	98.44(%)	100%	3773	3773	0.0	Query_1722512
<i>Gorilla gorilla</i>	98.01(%)	100%	3757	3757	0.0	Query_1722513
<i>Pongo abelii</i>	95.70(%)	100%	3685	3685	0.0	Query_1722514
<i>Macaca mulatta</i>	93.03(%)	100%	3504	3504	0.0	Query_1722515
<i>Papio anubis</i>	91.92(%)	99%	3452	3452	0.0	Query_1722516
<i>Callithrix jacchus</i>	87.77(%)	100%	3264	3264	0.0	Query_1722518
<i>Saimiri boliviensis</i>	84.54(%)	92%	2905	2520	0.0	Query_1722517
<i>Balaenoptera musculus</i>	77.26(%)	100%	2828	2828	0.0	Query_1722532
<i>Equus caballus</i>	76.12(%)	99%	2766	2766	0.0	Query_1722526
<i>Marmota monax</i>	75.32(%)	100%	2794	2794	0.0	Query_1722527
<i>Felis catus</i>	75.55(%)	100%	2756	2756	0.0	Query_1722520
<i>Tursiops truncatus</i>	75.92(%)	100%	2749	2749	0.0	Query_1722531
<i>Canis lupus familiaris</i>	74.12(%)	100%	2667	2667	0.0	Query_1722519
<i>Sus scrofa</i>	73.25(%)	100%	2660	2660	0.0	Query_1722525
<i>Gulo gulo luscus</i>	73.19(%)	100%	2637	2637	0.0	Query_1722521
<i>Ovis aries</i>	72.45(%)	100%	2632	2632	0.0	Query_1722523
<i>Bos taurus</i>	71.78(%)	100%	2587	2587	0.0	Query_1722522
<i>Capra hircus</i>	71.22(%)	100%	2551	2551	0.0	Query_1722524
<i>Phondopus roborovskii</i>	57.77(%)	100%	1892	1892	0.0	Query_1722530
<i>Rattus norvegicus</i>	56.04(%)	100%	1849	1849	0.0	Query_1722529
<i>Mus musculus</i>	55.98(%)	100%	1845	1845	0.0	Query_1722528
<i>Monodelphis domestica</i>	46.16(%)	100%	1324	1324	0.0	Query_1722533

Pada mamalia non-primata seperti *Canis lupus familiaris*, *Sus scrofa*, *Bos taurus*, dan *Felis catus*, nilai identity menurun ke kisaran 71–76%, dengan total score yang lebih rendah dibandingkan primata. Penurunan ini mengindikasikan adanya divergensi sekuens yang lebih besar, baik berupa substitusi maupun kemungkinan pergeseran

struktur domain, meskipun e-value tetap 0.0 dan Query Cover mencapai 99–100%. Spesies laut seperti *Balaenoptera musculus* dan *Tursiops truncatus* menunjukkan pola serupa, menandakan konservasi moderat namun jelas lebih jauh dari manusia secara genetik. Pola ini memperlihatkan bahwa meskipun hubungan evolusi sudah lebih

jauh, sebagian besar struktur dasar BRCA1 masih terpelihara pada kelompok mamalia ini.

Pada kelompok rodensia dan marsupialia seperti *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Phodopus roborovskii*, dan *Monodelphis domestica*, identity turun drastis menjadi 46–57%, disertai skor alignment yang jauh lebih rendah. Tren ini menunjukkan terjadinya divergensi genetik yang substansial, yang mencakup lebih banyak substitusi, gap, dan potensi perubahan motif fungsional BRCA1. Meskipun Query Cover tetap 100%, besarnya penurunan skor menandakan bahwa jarak filogenetik kelompok ini dari manusia sangat besar. Dengan demikian, pola skor rodensia dan marsupialia memberikan batas evolusioner terjauh dalam rangkaian spesies pembandingan.

Secara keseluruhan, pola penurunan identity dan skor alignment dari primata besar hingga marsupialia secara konsisten menggambarkan gradien evolusi antar spesies yang dipilih dalam analisis ini. Pendekatan evolusioner komparatif dengan membandingkan sekuens BRCA1 lintas mamalia telah terbukti menjadi metode yang mapan untuk mengidentifikasi situs asam amino penting secara fungsional dan memprediksi dampak mutasi missense (Fleming dkk., 2003), sehingga memberikan dasar yang kuat bagi analisis MSA dan filogenetik ini. Oleh karena itu, hasil BLAST tidak hanya memvalidasi pemilihan spesies sebagai representasi kedekatan dan jauhnya hubungan evolusi, tetapi juga memastikan bahwa pola konservasi yang dianalisis pada posisi mutasi benar-benar mencerminkan perbedaan biologis yang relevan.

Analisis Sifat Substitusi Asam Amino Secara Kimia

Analisis Sifat Substitusi pada VUS1

Pada VUS1, substitusi tirosin menjadi sistein merupakan perubahan non-konservatif yang secara langsung mengubah karakter kimiawi residu pada bagian C-terminus tail BRCA1, yaitu area yang berperan dalam interaksi protein–protein dan stabilitas domain terminal. Tirosin merupakan residu aromatik besar dengan cincin fenolik yang berkontribusi terhadap interaksi hidrofobik dan berpotensi mengalami fosforilasi, sehingga keberadaannya sering mendukung kestabilan

konformasi lokal. Sebaliknya, sistein memiliki ukuran yang lebih kecil dan membawa gugus tiol reaktif yang dapat membentuk ikatan disulfida maupun mengalami proses oksidasi, sehingga memperkenalkan sifat kimia yang sama sekali berbeda pada posisi tersebut (Alberts, 2003). Perbedaan drastis ini mengindikasikan bahwa substitusi tersebut berpotensi mengubah dinamika lokal struktur protein, terutama karena pergeseran dari residu aromatik stabil menuju residu yang lebih reaktif dan sensitif terhadap kondisi redoks.

Analisis Sifat Substitusi pada VUS2

Pada VUS2, substitusi dari serin menuju arginin merupakan perubahan non-konservatif yang terjadi pada area tengah protein, tepatnya pada residu batas struktural yang biasanya menandai transisi antara elemen struktur sekunder. Serin adalah residu kecil, polar, dan netral yang sering berperan dalam pembentukan ikatan hidrogen serta memberikan fleksibilitas pada struktur lokal, sehingga kehadirannya umumnya mendukung dinamika mikro-lingkungan yang halus. Arginin, sebaliknya, merupakan residu besar bermuatan positif dengan gugus guanidinium yang sangat reaktif dalam interaksi elektrostatis, sehingga introduksinya dapat secara drastis mengubah distribusi muatan pada wilayah tersebut (Alberts, 2003). Pergantian menuju residu bermuatan besar ini juga berpotensi meningkatkan kepadatan interaksi elektrostatis secara tiba-tiba, yang dapat mengganggu stabilitas daerah batas struktural yang sensitif terhadap perubahan karakter kimiawi. Dengan demikian, mutasi S → R pada posisi ini diperkirakan dapat memengaruhi keseimbangan interaksi lokal serta kestabilan elemen struktural yang berdekatan akibat perubahan signifikan dalam ukuran, muatan, dan reaktivitas residu.

Analisis Sifat Substitusi pada VUS3

Pada VUS3, substitusi treonin menjadi prolin merupakan perubahan yang berpotensi memberikan dampak paling besar karena terjadi pada N-terminus BRCA1, tepat di dalam domain Zinc Finger RING-Type yang penting untuk aktivitas ubiquitin ligase dan interaksi homodimerisasi. Treonin adalah residu polar kecil yang mampu membentuk ikatan hidrogen, sehingga membantu menjaga

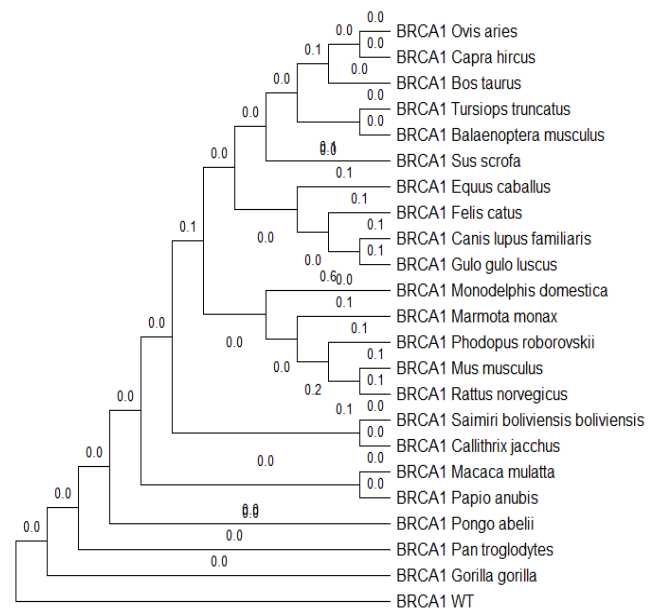
fleksibilitas, stabilitas lokal, dan kontinuitas struktur sekunder pada domain tersebut. Prolin, sebaliknya, memiliki struktur siklik yang kaku dan terikat kembali pada backbone, yang membatasi rotasi serta sering berfungsi sebagai “helix breaker”, sehingga dapat mengganggu pembentukan heliks atau loop fungsional dalam domain (Alberts, 2003). Pergantian Thr → Pro ini memberikan pergeseran kimiawi yang sangat drastis dan dapat menyebabkan distorsi pada arsitektur lokal domain RING, terutama pada elemen struktural yang sensitif. Mutasi ini dinilai memiliki potensi paling signifikan dalam mengubah kestabilan lipatan maupun fungsi interaksi domain RING dibandingkan dua VUS lainnya.

Analisis Filogenetik BRCA1

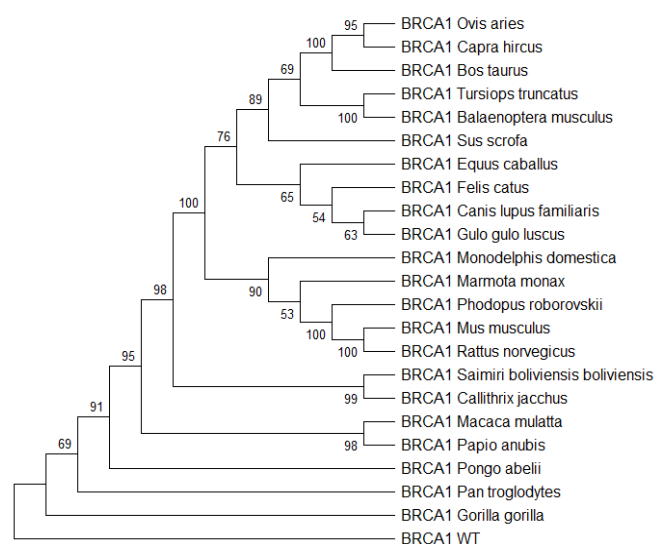
Analisis filogenetik sekuens protein BRCA1 pada manusia dan berbagai mamalia menunjukkan pola kekerabatan yang selaras dengan taksonomi evolusioner. Pohon dibuat unrooted sehingga kedekatan antarspesies dinilai dari panjang cabang. Sebagian besar kelompok besar, yaitu primata, ungulata, dan cetacea, memiliki cabang terminal sangat pendek (0.0–0.1), menandakan divergensi BRCA1 yang rendah. Klade Primata paling terkonservasi, karena seluruh spesies memiliki branch length ≈ 0.0 dan node internal 0.0–0.1. Pada ungulata dan cetacea, *Ovis aries*, *Capra hircus*, *Bos taurus*, *Sus scrofa*, *Tursiops truncatus*, dan *Balaenoptera musculus* juga memiliki nilai ≈ 0.0 , dengan node penggabung 0.0–0.1. Pola cabang pendek ini menunjukkan konservasi kuat BRCA1 di mamalia, dengan divergensi lebih besar hanya pada beberapa titik, seperti *Equus caballus* (0.1) dan salah satu node internal carnivora (~ 0.6).

Sementara sebagian besar kelompok menunjukkan kemiripan sekuens yang tinggi, terdapat beberapa bagian pohon yang menampilkan divergensi yang relatif lebih besar. Pada Carnivora, misalnya, *Felis catus* dan *Canis lupus familiaris* memiliki branch length sekitar 0.1, tetapi salah satu node internal yang terhubung dengan *Gulo gulo* menunjukkan nilai yang jauh lebih besar, yaitu sekitar 0.6, menandakan percabangan yang lebih besar dalam di dalam kelompok ini. Rodentia juga memperlihatkan variasi panjang cabang yang sedikit lebih lebar, dengan beberapa internal node

memiliki nilai 0.1–0.2, menunjukkan adanya akumulasi substitusi yang sedikit lebih tinggi di dalam subklade tertentu dibandingkan kelompok mamalia lain. *Monodelphis domestica* sebagai marsupial berdiri terpisah dengan panjang cabang 0.1, memosisikannya sebagai garis keturunan non-plasental yang divergen sebelum kelompok rodensia dan ungulata.



Gambar 4. Pohon filogenetik berdasarkan panjang cabang (*branch length*) untuk sekuens BRCA1 manusia dan ortholog mamalia.



Gambar 5. Pohon filogenetik BRCA1 dengan nilai bootstrap yang menunjukkan tingkat kepercayaan pada setiap node.

Tingkat kepercayaan terhadap pohon didukung kuat oleh nilai bootstrap yang tinggi pada sebagian besar node utama. Klade Ungulata dan Cetacea menunjukkan dukungan sangat kuat, dengan bootstrap 95 pada Ovis–Capra, 100 pada node yang menggabungkan Bos, serta 100 pada Tursiops–Balaenoptera, menegaskan konsistensi hubungan kelompok ini. Rodentia memiliki beberapa node sangat kuat, termasuk 100 pada *Mus–Rattus*, meskipun beberapa percabangan internal hanya didukung 53–58, menunjukkan stabilitas moderat hingga lemah. Pada Carnivora, bootstrap 54–65 menandakan hubungan internal kurang stabil dibanding klade besar lainnya. Primata memiliki dukungan tinggi, 99 pada *Saimiri–Callithrix*, 98 pada *Macaca–Papio*, dan 91–95 pada node penggabungan subklade lebih luas; terdapat satu node internal memiliki bootstrap 69, menunjukkan dukungan moderat, namun keseluruhan klade tetap stabil dan konsisten dengan kekerabatan yang diharapkan. Secara keseluruhan, pola bootstrap menegaskan relasi antar-spesies pada klade besar seperti Primata, Ungulata, Cetacea, dan sebagian Rodentia sangat kuat, sementara percabangan internal Carnivora dan beberapa rodentia lebih rentan terhadap perubahan bila data tambahan dimasukkan.

Integrasi Analisis dan Evaluasi Potensi Patogenisitas Varian

Evaluasi VUS1

VUS1 terletak pada bagian C-terminal BRCA1, berada di wilayah ekor C-terminal yang berdekatan dengan BRCT domain, yaitu domain yang berperan penting dalam pengenalan fosfo-peptida dan interaksi protein-protein dalam jalur perbaikan DNA. Hasil MSA menunjukkan bahwa residu tirosin pada posisi ini dipertahankan secara konsisten pada seluruh primata, sedangkan variasi muncul pada spesies non-primata seperti alanin pada anjing, serin pada mencit, dan ketiadaan residu teranotasi pada sapi. Pola konservasi seperti ini memiliki dua implikasi: pertama, posisi ini tidak sepenuhnya rigid secara evolusioner karena perubahan dapat terjadi pada garis keturunan jauh dari manusia; kedua, konservasi yang kuat pada primata tetap memberikan indikasi bahwa residu ini kemungkinan lebih penting bagi struktur atau fungsi

BRCA1 pada organisme yang secara evolusi dekat dengan manusia. Dari sisi kimiawi, substitusi Y→C bersifat non-konservatif karena mengubah residu aromatik besar menjadi residu kecil ber-sulfur yang lebih reaktif, sehingga tetap berpotensi memengaruhi interaksi lokal. Namun, karena residu ini tidak menunjukkan konservasi absolut lintas spesies dan tidak berada pada domain paling kritis, potensi patogenisitasnya diperkirakan berada pada tingkat rendah-menengah (low to moderate).

Evaluasi VUS2

VUS2 berada di bagian tengah BRCA1 dan diperkirakan terletak tepat pada residu batas struktural berdasarkan peninjauan fitur domain di UniProt serta pemetaan posisi melalui PMT. Residu pada wilayah batas struktural biasanya menandai transisi antara dua elemen struktur sekunder, sehingga keberadaannya dapat berperan dalam menjaga kesinambungan lipatan maupun fleksibilitas lokal. Hasil MSA menunjukkan bahwa serin pada posisi ini memiliki tingkat konservasi evolusioner yang tinggi, karena seluruh spesies mempertahankan S kecuali empat spesies yang memiliki asparagin (N), yaitu substitusi alami yang masih berada dalam kelompok residu polar kecil dan netral. Pola tersebut mengindikasikan bahwa posisi ini penting, tetapi tetap memiliki toleransi minimal terhadap perubahan yang tidak mengubah sifat kimiawi dasarnya.

Secara kimiawi, substitusi alami S→N tergolong konservatif karena keduanya mampu membentuk ikatan hidrogen dan tidak membawa muatan, sehingga perubahan tersebut tidak mengganggu struktur lokal secara berarti. Namun, substitusi patogenik yang diuji pada VUS2 yaitu S→R menunjukkan perubahan sifat yang jauh lebih drastis: arginin merupakan residu besar dengan gugus guanidinium bermuatan positif yang dapat memengaruhi interaksi elektrostatis serta distribusi muatan di wilayah tersebut. Fakta bahwa variasi alami hanya berkisar antara serin dan asparagin menegaskan bahwa posisi ini mempertahankan karakter polar-netralnya sepanjang evolusi, sehingga perubahan menuju residu besar-bermuatan positif menjadi jauh lebih radikal dibandingkan variasi yang pernah ditemui. Karena posisinya berada pada titik transisi struktur, perubahan dari

residu kecil-netral menjadi residu besar-bermuatan berpotensi mengubah dinamika lipatan lokal atau kestabilan elemen struktural di sekitarnya. Berdasarkan tingkat konservasi, sifat kimia substitusi, dan konteks strukturalnya, potensi patogenisitas VUS2 diperkirakan berada pada kategori menengah (moderate).

Evaluasi VUS3

VUS3 terletak pada N-terminal BRCA1, tepat di dalam RING domain yang mencakup residu 24–65 dan berperan penting dalam aktivitas E3 ubiquitin ligase serta pembentukan kompleks dimer BRCA1–BARD1. Karena RING domain merupakan elemen struktural yang sangat sensitif terhadap perubahan konformasi dan koordinasi ion zinc, residu di dalamnya umumnya menunjukkan tingkat konservasi yang sangat tinggi. Hal ini konsisten dengan hasil MSA, di mana treonin pada posisi 37 ditemukan fully conserved di seluruh spesies pembanding tanpa adanya substitusi apa pun. Satu-satunya pengecualian berupa gap pada satu sekuens tidak dihitung sebagai bentuk variasi residu, sehingga pola konservasi tetap mencerminkan bahwa posisi ini merupakan residu kunci yang telah dipertahankan secara evolusioner selama jutaan tahun.

Dari sisi kimiawi, substitusi T→P bersifat sangat drastis. Treonin merupakan residu polar kecil yang mampu membentuk ikatan hidrogen, sehingga memberikan fleksibilitas dan memungkinkan stabilisasi mikro-lingkungan lokal di dalam domain RING. Prolin, sebaliknya, memiliki struktur cincin siklik yang terikat pada backbone, menyebabkan berkurangnya rotasi phi dan membuatnya dikenal sebagai “helix breaker” atau pematah konektivitas struktur sekunder. Pada domain yang bergantung pada kelengkungan heliks pendek, loop teratur, dan koordinasi logam seperti RING, kehadiran prolin pada posisi kritis dapat mengganggu orientasi residu fungsional lain, memengaruhi geometri koordinasi zinc, atau mengubah dinamika interaksi BRCA1–BARD1. Kombinasi antara konservasi evolusioner absolut, lokasi dalam domain fungsional esensial, dan sifat substitusi yang sangat tidak konservatif menjadikan VUS3 sebagai varian dengan potensi dampak struktural dan fungsional paling signifikan di antara ketiga VUS yang

dianalisis. Jika seluruh bukti, yaitu konservasi evolusi, lokasi domain, sifat kimiawi residu, dampak struktur lokal, dan data populasi digabungkan, maka tingkat kecurigaan potensi patogenisitas ketiga VUS tersusun sebagai berikut:

VUS3 (p.T37P) > VUS2 (p.S1180R) > VUS1 (p.Y1863C)

Meskipun integrasi konservasi evolusioner, analisis domain, dan sifat kimiawi residu memberikan gambaran yang kuat mengenai potensi dampak masing-masing varian, seluruh penilaian ini masih terbatas pada pendekatan *in silico*. Oleh karena itu, interpretasi patogenisitas ketiga varian tersebut tetap bersifat prediktif dan memerlukan validasi eksperimental lebih lanjut melalui uji fungsional maupun data klinis.

KESIMPULAN

Analisis *in silico* terhadap tiga VUS BRCA1 menunjukkan bahwa tingkat konservasi evolusioner, lokasi mutasi dalam domain fungsional, serta sifat kimiawi substitusi memberikan kontribusi yang berbeda terhadap potensi dampak biologis masing-masing varian. VUS3 (p.Thr37Pro), yang berada pada RING domain dan mengenai residu yang sepenuhnya terkonservasi, menunjukkan indikasi paling kuat terhadap kemungkinan gangguan struktural maupun fungsional. VUS2 (p.Ser1180Arg) memperlihatkan dampak tingkat menengah akibat perubahan kimiawi yang drastis pada posisi dengan konservasi tinggi tetapi tidak absolut. Sementara itu, VUS1 (p.Tyr1863Cys) menunjukkan indikasi risiko paling rendah karena berada pada posisi dengan konservasi yang lebih longgar. Meskipun temuan ini memberikan gambaran awal mengenai potensi patogenisitas ketiga varian, seluruh interpretasi tetap bersifat prediktif dan memerlukan validasi eksperimental lebih lanjut melalui uji fungsional maupun data klinis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pengampu atas arahan, masukan, dan dukungan akademik yang diberikan selama proses pelaksanaan dan penyusunan penelitian ini. Penulis juga berterima kasih

kepada pihak yang menyediakan akses terhadap sumber data dan perangkat lunak yang digunakan dalam analisis penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

Semua penulis berkolaborasi dalam melaksanakan setiap tahap penelitian dan penulisan naskah.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada intervensi kepentingan dalam kegiatan penelitian ini.

REFERENSI

- Alberts, B., Heald, R., Johnson, A.D., Morgan, D., Raff, M.C., Roberts, K., dan Walter, P., 2022, *Molecular Biology of the Cell* (7th ed.), W. W. Norton & Company.
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Soerjomataram, I., dan Jamal, A., 2024, *Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Esrtimatesof Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*, *CA Cancer J Clin* 74(1): 229-263, DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21834>.
- Fleming, M.A., Potter, D.J., Ramirez C.J., Ostrander, G.K., dan Ostrander, E.A., 2003, *Understanding missense mutations in the BRCA1 gene: an evolutionary approach*. *PNAS* 100(4): 1151–1156, DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0337837100>.
- Hart, S.N., Hoskin, T., Shimelis, H., Moore, R.M., Thomas, A., Lindor, N.M., Polley, E.G., Goldgar, D.E., Iversen, E., Monteiro, A.N.A., Suman, V.J., dan Couch, F.J., 2019, *Comprehensive Annotation of BRCA1 and BRCA2 Missense Varints by Functionally Validated Sequence-based computational Prediction Models*, *Gened Med* 21(2): 71-80, DOI: <https://doi.org/10.1038/s41436-0018-4Get>.
- Huszno, J., Pigłowski, W., Mazur, M., Piłat, J.P., Zajkowicz, A., Kierzkowska, A.F., dan Wojciechowska, M.O., 2021, *BRCA1/BRCA2 Varian of Uncertain Significance in Clinical Practice: A case revort*, *Molecular and Clinical Oncology* 15(222): 1-6, DOI: <https://doi.org/10.3892/mco.2021.2385>.
- Loul, D.I., McBee, R.M., Le, U.Q., Stone, A.C., Wilkerson, G.K., Demogines, A.M., dan Sawyer, S.L., 2014, *Rapid Evolution of BRCA1 and BRCA2 in Humans and Other Primates*, *BMC Evolutionary Biology* 14(1): 1-13, DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-14-155>.
- Padilla, N., Fernández, A.M., Riera, C., Montalban, G., Özkan, Ootes, L., Bonache, S., Díez, O., Enríquez, S.G., dan Cruz, X.D.L., 2019, *BRCA1- and BRCA2-specific in silico tools for variant interpretation in the CAGI 5 ENIGMA challenge*, *Hum Muta* 40(9): 1593-1611, DOI: <https://doi.org/10.1002/humu.23802>.
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., dan Foster, J.G., 2015, *Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology*, *Genet Med* 17(5): 405-424, DOI: [10.1038/gim.2015.30](https://doi.org/10.1038/gim.2015.30).
- Robert, X., Guillon, C. and Gouet, P., 2025 *FoldScript: A Web Server for the Efficient Analysis of AI-Generated 3D Protein Models*, *Nucleic Acids Res* 53(W1), W277-W282, DOI: [10.1093/nar/gkaf326](https://doi.org/10.1093/nar/gkaf326).
- Szabo, C.I., Wagner, L.A., Francisco, L.V., Roach, J.C., Argonza, R., King, M., dan Ostrander, E.A., 1996, *Human, Canine and Murine BRCA1 Genes: Sequence Comparison Among Species*, *Human Molecular Genetics* 5(9): 1289-1298, DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/5.9.1289>.
- Takaoka, M., dan Miki, Y., 2018, *BRCA1 Gene: Function and deficiency*, *Int J Clin Oncol* 23(1): 36-44, DOI: <https://doi.org/10.1007/s10157-017-1182-2>.
- Werner, H., 2022, *BRCA1: An Endocrine and Metabolic Regulator*, *Frontiers in Endocrinology* 13(1): 1-8, DOI: [10.3389/fendo.2022.844575](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.844575).
- World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. (2020). *Breast*

Cancer. Diambil dari
<https://www.iarc.who.int/cancer-type/breast-cancer/#:~:text=Perkenalan&text=Pada%20tahun%202020%2C%20kanker%20payudara,akibat%20kanker%20keempat%20secara%20keseluruhan>