

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cabai

Tanaman cabai (*Capsicum annuum* L.) berasal dari daerah tropika dan subtropika Benua Amerika, khususnya Colombia, Amerika Selatan, dan terus menyebar ke Amerika Latin. Bukti budidaya cabai pertama kali ditemukan dalam tapak galian sejarah Peru dan sisaan biji yang telah berumur lebih dari 5000 tahun SM di dalam gua di Tehuacan, Meksiko. Penyebaran cabai ke seluruh dunia termasuk negara-negara di Asia, seperti di Indonesia dilakukan oleh pedagang Spanyol dan Portugis (Dermawan, 2010). Cabai merupakan tanaman yang penting di Indonesia, karena hampir semua masakan khas Indonesia menggunakan cabai.

2.1.1 Botani Cabai (*Capsicum annuum* L.)

Cabai diklasifikasikan dalam taksonomi sebagai berikut :

Kerajaan/kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: angiospermae
Kelas	: dycotyledoneae
Subkelas	: sympetale
Ordo	: Solanales
Genus	: <i>Capsicum</i>
Spesies	: <i>Capsicum annuum</i> L.

Tanaman cabai termasuk kedalam kelompok *solanacea*. Tanaman lain yang masih berkerabat dengan cabai diantaranya adalah kentang (*Solanum tuberosum*), terung (*Solanum melongena* L), leunca (*Solanum nigrum* L), akokak (*Solanum torvum* Swartz) dan tomat (*Solanum lycopersicum*).

Cabai merupakan tanaman perdu dari family terung-terungan (*solanaceae*). Keluarga ini diduga memiliki sekitar 90 genus dan sekitar 2000 spesie yang terdiri dari tumbuhan herba, semak dan tumbuhan kerdil lainnya, hampir dari semua tanaman tersebut merupakan tanaman dari negeri tropis. Tanaman cabai sendiri diperkirakan ada sekitar 20 spesies yang sebagian besarnya tumbuh di tempat asalnya yaitu Amerika. Dan yang sudah banyak digunakan masyarakat baru beberapa saja yaitu cabai besar (*Capsicum annum* L.), cabai kecil (*Capsicum frustecens*), *Capsicum baccatum*, *Capsicum pubescens* dan *Capsicum chinense*.

2.1.2 Morfologi Cabai

2.1.2.1 Daun

Pada umumnya berwarna hijau muda sampai hijau tua tergantung dengan varietasnya. Daun cabai yang ditopang oleh tangkai mempunyai tulang yang menyiri. Bentuknya umumnya bulat telur, lonjong, dan oval dengan ujung meruncing, tergantung jenis dan varietasnya.

2.1.2.2 Buah/biji

Buahnya berbentuk kerucut memanjang, lurus atau bengkok, meruncing pada bagian ujungnya, menggantung, permukaan licin mengkilap, diameter 1-2

cm, panjang 4-17 cm, bertangkai pendek, rasanya pedas. Buah muda berwarna hijau tua, setelah masak menjadi merah cerah. Sedangkan untuk bijinya biji yang masih muda berwarna kuning, setelah tua menjadi cokelat, berbentuk pipih, berdiameter sekitar 4 mm. Rasa buahnya yang pedas dapat mengeluarkan air mata orang yang menciumnya, tetapi orang tetap membutuhkannya untuk menambah nafsu makan (Nurfalach, 2010)

2.1.2.3 Akar

Tanaman cabai mempunyai akar tunggang yang terdiri atas akar utama dan akar lateral, akar lateral mengeluarkan serabut, mampu menembus kedalam tanah mencapai 50 cm dan melebar sampai 45 cm. Menurut Harpenas., (2010), cabai adalah tanaman semusim yang berbentuk perdu dengan perakaran akar tunggang. Sistem perakaran tanaman cabai agak menyebar, panjangnya berkisar 25-35 cm. Akar ini berfungsi antara lain menyerap air dan zat makanan dari dalam tanah, serta menguatkan berdirinya batang tanaman. (Tjahjadi, 1991 *cit* Nurfalach, 2010)

2.1.2.4 Bunga

Bunga cabai berbentuk seperti terompet, sama dengan bunga pada tanaman keluarga *solanaceae* lainnya. Bunga cabai merupakan bunga lengkap yang terdiri dari kelompok bunga, mahkota bunga, benang sari, dan putik. Bunga cabai juga merupakan bunga yang berkelamin dua karena benang sari dan putik terdapat pada satu tangkai. Bunga cabai keluar dari ketiak daun.

2.2 Cekaman Kekeringan Pada Tanaman Cabai

Cekaman kekeringan merupakan salah satu factor abiotik yang sangat berpengaruh terhadap produktifitas cabai. Sementara cekaman kekeringan pada saat fase pertumbuhan vegetative akan berpengaruh terhadap indeks luas daun, perkembangan tunas baru, dan nisbah tajuk akar (Kramer, 1993). Intensitas pengarruh cekaman kekeringan terhadap tanaman ditentukan oleh tingkat cekaman dan fase pertumbuhan tanaman saat mengalami cekaman.

Cekaman kekeringan akan mempengaruhi berbagai mekanisme seluler biokimia dan fisiologi. Mekanisme respon terhadap kekeringan dapat dibedakan menjadi tiga yaitu mekanisme *escape* (pelarian), *avoidance* (penghindaran), *tolerance* (toleransi). Pelarian merupakan suatu kondisi dimana tanaman mampu menyelesaikan siklus hidupnya sebelum terjadi cekaman kekeringan. Sehingga tidak mengalami cekaman. Ketahanan merupakan kemampuan tanaman mempertahankan potensial air jaringan yang relatif tinggi pada saat kekeringan. Sedangkan toleransi adalah kemampuan tanaman untuk bertahan hidup dengan potensial air jaringan yang rendah (Mitra, 2001). Pada saat terjadi kekeringan, sebagian stomata daun menutup sehingga terjadi hambatan masuknya CO₂ dan menurunkan aktivitas fotosintesis. Selain menghambat aktivitas fotosintesis, cekaman kekeringan juga menghambat sintesis protein dan dinding sel (Salisbury and Ross, 1995). Pengaruh cekaman kekeringan tidak saja menekan pertumbuhan dan hasil bahkan menjadi penyebab kematian tanaman (Djazuli, 2010)

Beberapa tanaman memiliki mekanisme umum dalam respons fisiologis dan toleransi terhadap kekeringan dan suhu rendah. Sebagai contoh, asam absis

(ABA) diproduksi di bawah kekeringan dan tekanan suhu rendah dan memberikam peran penting dalam memungkinkan tanaman untuk mentoleransi kedua tekanan. Selain itu tanaman tumbuh pada kondisi kekeringan menunjukkan toleransi yang lebih tinggi terhadap suhu rendah (Liu, 1998).

Penelitian yang telah dilakukan pada tanaman kentang oleh Pino *et al* (2013) menunjukkan bahwa kekeringan tidak hanya mempengaruhi produksi pada umbi, tetapi juga mempengaruhi pertumbuhan terutama pada vegetatif seperti pertumbuhan panjang tunas, ukuran daun dan jumlah daun. Selain penutupan stomata, stres kekeringan mengurangi pertukaran gas melalui pengurangan pada proses transpirasi dan tingkat fotosintesis (Ekanayake dan Midmore, 1992; Deblonde dan Ledent, 2001).

Prolin merupakan asam amino yang berperan sebagai senyawa osmoprotektan, yaitu senyawa yang terakumulasi saat tanaman mengalami cekaman kekeringan atau cekaman osmotik (Szabados & Savoure, 2009). Proline memiliki hubungan erat pada toleransi, hal ini terjadi pada beberapa jenis tanaman, seperti padi (Su dan Wu, 2004) dan kentang (Knipp dan Honermeier, 2006). Sebuah studi pada tanaman kentang yang berbeda genotipe menunjukkan proline yang terakumulasi secara bebas di daun di bawah cekaman kekeringan (Bansal dan Nagarajan, 1986). Akan tetapi beberapa studi menunjukkan bahwa konsentrasi prolin meningkat pada varietas yang rentan kekeringan dibanding pada varietas toleran kekeringan, hal ini menunjukkan bahwa akumulasi prolin hanya karakteristik varietas kentang (Schafleitner *et al.*, 2007).

2.3 Metodologi Analisis DNA Tanaman Cabai untuk mendeteksi toleran terhadap kekeringan

Metodologi dasar dalam melakukan analisis DNA pada tanaman diawali dengan isolasi DNA dari sel tanaman. DNA yang telah diisolasi harus memiliki kuantitas yang cukup dan kualitas yang baik. Cabai termasuk dalam golongan tanaman tingkat tinggi sehingga dalam mengisolasi DNA masih terhitung mudah. Karena isolasi dapat dilakukan melalui daun, batang, maupun akar tanaman. Cabai memiliki banyak varietas genetik, sehingga morfologi cabai mempunyai variasi yang spesifik hal ini di sebabkan adanya perbedaan DNA yang terkandung didalam cabai.

Tanaman menyimpan informasi genetik dalam genom inti dan organel, yaitu kloroplas dan mitokondria. Beberapa mekanisme seperti delesi, inversi, translokasi, dan transposisi yang dapat terjadi secara alami maupun dengan di induksi. Mekanisme tersebut dapat menyebabkan terjadinya perubahan basa-basa dan sekuen nukleotida pada sekuen DNA. Mekanisme perubahan tersebut tidak selalu mengubah fenotipe tanaman, sehingga penggunaan penanda akan langsung berintegrasi dengan system genetik dan lebih memperlihatkan keadaan genom sesungguhnya.

2.3.1 Struktur DNA

Pada tahun 1953, James Watson dan Francis Crick telah membuka wawasan baru tentang penemuan model struktur DNA. Publikasi model DNA heliks ganda ini disusun berdasarkan penemuan : 1) stuktur asam nukleat dari

Pauling dan Corey, 2) pola difraksi DNA yang dianalisis dengan sinar X (*single-crystal*) X-ray analysis) dari Wilkins dan Franklin, 3) Pola perbandingan A-T, G-C (1:1) dari Chargraff atau dikenal dengan hukum ekuivalen Chargraff: jumlah purin dan pirimidin adalah sama, banyaknya adenine sama dengan timin, demikian pula dengan jumlah glisin sama dengan jumlah Sitosin (Fatchiyah *et al.*, 2011)

DNA terbentuk dari empat tipe nukleotida yang berikatan secara kovalen membentuk rantai polinukleotida (rantai DNA atau benang DNA) dengan rangka (tulang punggung) gula fosfat tempat melekatnya basa-basa. Dua rantai polinukleotida saling berikatan melalui ikatan hidrogen antara basa-basa nitrogen dari rantai yang berbeda. Semua basa dalam bentuk heliks ganda dan rangka (tulang punggung) gula fosfat berada dibagian luar. Purin selalu berpasangan dengan pirimidin (A-T, G-C), berpasangan secara komplementer tersebut memungkinkan pasangan basa dikemas dalam susunan yang paling sesuai. Hal ini bisa terjadi apabila kedua rantai polinukleotida tersusun secara antiparalel. (Fatchiyah *et al.*, 2011)

Kedua rangka (tulang punggung) gula fosfat berpilin membentuk heliks ganda dengan satu putaran komplementer setiap 10 pasang basa. Polaritas dari rangkaian DNA ditunjukkan dengan ujung 5' dan ujung 3'. Arah pembacaan nukleotida dari ujung 5' menuju ujung 3'. Ujung 3' membawa gugus OH bebas pada posisi 3' dari cincin gula, dan ujung 5' membawa ujung fosfat bebas pada posisi 5' dari cincin gula. Kedua untai ganda heliks DNA dapat melakukan replikasi yang memiliki susunan asam nukleotida yang sama dengan cetakan

aslinya, karena masing-masing untai mengandung sekuens nukleotida yang identik berkomplemen dengan sekuen untai pasangannya. Masing-masing untai berperan sebagai cetakan untuk sintesis dari untai komlemen baru yang identik dengan pasangan awalnya (Fatchiyah *et al.*, 2011).

Pemanfaatan DNA merupakan alternative termudah dalam analisis keragaman genetik (DNA *fingerprinting*) yang lebih baik, terutama dalam mengkarakterisasi populasi tanaman karena mampu menyediakan polimorfisme pita DNA dalam jumlah yang banyak, konsisten dan tidak dipengaruhi oleh lingkungan. Analisis molekuler tumbuhan tergantung pada jumlah dan kemurnian sampel DNA (Pharmawati, 2009). Kehadiran metabolit sekunder pada tanaman tinggi terkadang menghambat proses isolasi dan menyebabkan munculnya kontaminasi pada DNA murni. DNA yang baik secara kualitas dalam arti kemurnian DNA maupun kuantitas (konsentrasi DNA). dalam proses isolasi merupakan tahap awal yang sangat penting dan harus terpenuhi dalam studi molekuler. Organisme eukariot menyimpan DNA dalam inti sel. Secara garis besar, isolasi DNA perlu melalui beberapa tahap yaitu melisis dinding sel dan membran sel untuk mengeluarkan isi sel, melisis protein membran, protein sitoplasmik serta nukleolar dan terakhir adalah proses presipitasi DNA untuk memisahkan DNA dari senyawa lain. Teknik isolasi dan purifikasi molekular tersebut sangat bervariasi.

2.3.2 *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*. Teknik ini pertama kali dikembangkan oleh

Kary Mullis pada tahun 1985. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Dengan diketemukannya teknik PCR disamping juga teknik-teknik lain seperti sekuensing DNA telah merevolusi bidang sains dan teknologi khususnya di bidang diagnose penyakit genetika kedokteran, forensic dan evolusi molekuler (Handoyo, 2000).

Proses PCR terjadi selama ± 2 jam, selama PCR akan mengalami tahapan tahapan yang harus dilalui. Tahapan-tahapan tersebut meliputi :

1. Denaturasi DNA template

Pada tahap ini utas ganda molekul DNA akan terpisah sempurna dan menghasilkan pita tunggal yang merupakan cetakan bagi primer. Penyebab kegagalan PCR yang paling umum adalah denaturasi yang tidak sempurna dari cetakan DNA (Innis dan Gelfand, 1990 *cit.* Kaidah, 1999) Denaturasi dilakukan dengan pemanasan hingga 94°C selama 30 detik. Pada suhu ini DNA utas ganda akan memisah menjadi utas tunggal. Denaturasi yang kurang sempurna memacu benang DNA *snabback* dan akan mengurangi hasil dari produk. apabila denaturasi terlalu tinggi atau terlalu lama maka akan menyebabkan kehilangan aktifitas enzim yang seharusnya tidak perlu terjadi (Innis dan Gelfand., 1990 *cit.* Kaidah., 1999). Penentuan suhu juga harus diperhatikan untuk keberhasilan dalam PCR.

2. Penempelan primer pada templat (*annealing*)

The primer annealing temperature (T_a) merupakan suhu yang diperkirakan primer dapat berikatan dengan template (DNA) dengan stabil (DNA-DNA

hybrid stability). Jika suhu aneling tinggi akan menyulitkan terjadinya ikatan primer dengan DNA template sehingga akan menghasilkan produk PCR yang rendah (kurang efisien). Namun jika T_a terlalu rendah akan menyebabkan terjadinya penempelan primer pada DNA template yang tidak spesifik.

3. Pemanjangan primer (*extension*)

Dilakukan dengan menaikkan suhu ke kisaran suhu kerja optimum enzim DNA polymerase, biasanya 70-72 °C. Pada tahap ini DNA polymerase akan memasang dNTP yang sesuai pada pasangannya, jika basa pada template adalah A, maka akan dipasang dNTP, begitu seterusnya (pasangan A adalah T, dan C dengan G, begitu pula sebaliknya). Enzim akan memperpanjang rantai baru ini hingga ke ujung. Lamanya waktu ekstensi bergantung pada panjang daerah yang akan diamplifikasi, secara kasarnya adalah 1 menit untuk setiap 1000 bp.

2.3.3 Primer Spesifik

Deoxyribose Nucleic Acid (DNA) total dari suatu organisme (genom) atau kandungan RNA seluler dari RNA adalah suatu campuran kompleks sekuens asam nukleat yang berbeda. Komponen-komponen tersebut sangat perlu untuk dibedakan sehingga dapat dilakukan analisis. Proses penemuan gen memerlukan adanya pelacak spesifik gen tersebut. Selain itu, pelacak spesifik juga dapat digunakan dalam mempelajari ekspresi suatu gen yang sesuai. Pelacak spesifik gen dapat dikembangkan dengan memanfaatkan kemajuan bioinformatika teknik-teknik biologi molekuler. Tekanan lingkungan, seperti salinitas, kekeringan dan dingin, bisa menimbulkan ekspresi gen dalam jumlah yang besar. Di antaranya

factor transkripsi yang mengatur ekspresi gen dengan mengikat secara khusus unsur-unsur yang terdapat pada tanaman atau membentuk transkripsional kompleks dengan protein lain.

Kekeringan tanaman tidak hanya tergambar pada respon fenotipe tanaman seperti panjang batang, panjang akar, dan penurunan produktifitas, melainkan perubahan biokimia dan molekuler. Perubahan molekuler dapat dibaca atau dideteksi dengan menggunakan primer spesifik. Beberapa penelitian telah dilakukan menggunakan primer spesifik yang dirancang sebagai primer yang mampu mengkodekan berdasarkan karakteristik dari masing-masing tanaman. (Shinozaki dan Yamaguchi-Shinozaki, 2007). Respon kekeringan berupa perubahan pada asam absisat (ABA) (Liu *et al.*, 1998), kemudian pada penelitian Pino *et al.*, 2013 pada tanaman kentang, mekanisme yang berpengaruh adalah prolin dan ABA. Berikut ini ada beberapa contoh primer spesifik yang dapat digunakan antara lain adalah DREB, P5CS, dan TIL.

2.3.1.1. *Drought Responsive Element Binding (DREB)*

Cekaman lingkungan yang merugikan diantaranya adalah kekeringan, suhu rendah dan salinitas tanah merupakan faktor abiotik yang memiliki pengaruh sangat kuat pada produksi pertanian dan keberlanjutan. Ketersediaan air yang terbatas sangat mempengaruhi penghasilan dan kualitas diseluruh spesies tanaman sehingga tanaman mengalami saat-saat kritis selama musim tanam (Parry *et al.*, 2005; Morison *et al.*, 2008). Kemampuan Tanaman bertahan tergantung pada kemampuan defisit air di tanah, tanaman dapat mempertahankan fotosintesis dan

turgor untuk waktu yang singkat, atau tanaman akan berhenti tumbuh. Proses penurunan aktifitas fotosintesis dan serangkaian tindakan pada proses perkembangan pada tanaman hal ini merupakan proses untuk memastikan kelangsungan hidup bagi tanaman. (Charlton *et al.*, 2008)

Sejumlah gen yang merespon stres akibat kekeringan pada tingkat transkripsi telah diidentifikasi pada beberapa spesies tanaman. Regulator utama dari ekspresi gen mediasi stres abiotik adalah faktor transkripsi, gen yang berperan adalah dehydration Responsif Element Binding (DREBs) memainkan (Nayak *et al.*, 2009).

Dehydration Responsif Element(DRE) dengan urutan inti A / GCCGAC diidentifikasi sebagai elemen promotor yang berperan pada cis yang mengatur ekspresi gen dalam respon kekeringan, garam dan stres pada keadaan dingin pada tanaman Arabidopsis (Sakuma *et al.*, 2006). Sejauh ini, banyak spesies tanaman, termasuk kacang-kacangan telah diidentifikasi oleh DREB. Di sisi lain, C-repeat (CRT) dan *Elemen Responsif Suhu Rendah* (LTRE) terdapat dalam gen yang diinduksi dingin (Nayak *et al.*, 2009). Faktor transkripsi DREB menginduksi satu set gen responsif stres abiotik; menjaga keseimbangan air dalam sistem tanaman dan kemudian menjadikan tanaman memiliki sifat toleransi stres abiotik. Protein DREB dibagi menjadi dua kelas DREB1 dan DREB2, berdasarkan perannya, masing-masing sebagai penanda suhu rendah dan dehidrasi. Begitu juga pada penelitian Jovanovic *et al.*, (2013), *Dehydration-Responsive Element* (DRE) pengikat protein merupakan hasil cloning dari CDNA (DREB1A dan DREB2A). Arabidopsis berinteraksi dengan urutan DRE di promotor daerah gen RD29A dari

dehidrasi dan suhu rendah. Tanaman Arabidopsis diberi perlakuan dengan menggunakan yeast onehybrid yaitu metode penyaringan gen yang mengkodekan DREB1A protein dan dua homolognya dan diinduksi untuk diekspresikan oleh stres dingin. Kemudian gen yang mengkodekan protein DREB2A dan single homolognya diinduksi untuk mengekspresikan dehidrasi dan garam tinggi (Jovanovic *et al.*, 2013).

Hasil studi menyatakan bahwa sebagian besar induksi stress kering dan dingin disebabkan oleh absisat asid (ABA). Dehidrasi memicu produksi ABA, dan kemudian menginduksi berbagai ekspresi, namun beberapa gen ABA-inducible diinduksi pada kondisi dingin dan kekeringan, tanaman akan mengalami pengurangan ABA, hal ini telah diteliti pada tanaman Arabidopsis, ternyata ABA pada tanaman ini sensitif (Thomashow, 1994)

2.3.1.2. P5CS (1-pyrroline-5-carboxylate synthetase)

Toleransi kekeringan berkaitan dengan karakteristik genotipe. Meningkatkan panjang dan kapasitas sistem akar, rasio berat akar/tunas kering. Karena tanaman yang mengalami stress air akan mengalami pengurangan bobot kering tunas yang relative (Chazen dan Neumann, 1994; Iwama, 2008). Akan tetapi selain itu kekeringan akan mempengaruhi zat terlarut yang ada pada tanaman. Zat terlarut yang kompatibel, seperti prolin, larut gula, dan glycine betaine, berperan peran penting dalam penyesuaian osmotik. Ketika tanaman mengalami tekanan osmotik, tanaman dapat menyebabkan peningkatan

konsentrasi proline, proline bertindak sebagai agen osmotik, melindungi tanaman dari dehidrasi (Kavi Kishor *et al.*, 2005; Szabados dan Savoure, 2010).

Prolin sangat berperan aktif dalam kondisi stress, berfungsi menstabilkan protein dan membran dan juga menyediakan sumber karbon, nitrogen dan energi selama sel terdehidasi (Kavi Kishor *et al.*, 2005; Szabados dan Savoure, 2010). Proline sangat berkaitan erat pada toleransi kekeringan dan tekanan abiotik pada beberapa jenis tumbuhan, seperti beras (Su dan Wu, 2004) dan kentang (Knipp dan Honermeier, 2006).

2.3.1.3. *Temperature Induced Lipocalin* (TIL)

Temperature Induced Lipocalin (TIL) merupakan salah satu penanda yang bekerja pada lipid, Lipidin adalah protein ekstraseluler yang sangat beragam dan fungsional. Hasil beberapa penelitian, lipocalin ditemukan pada bakteri, invertebrata dan vertebrata, namun sangat sedikit yang ditemukan pada tanaman. Lipidin tanaman dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, lipidin yang diinduksi suhu (TILs) dan lipocalin kloroplas (CHLs). Selain itu, violaxanthin de-epoxidases (VDEs) dan zeaxanthin epoxidases (ZEPs) dapat diklasifikasikan sebagai protein seperti lipokalinal. CHLs, VDEs, dan ZEPs memiliki peptida transit yang menargetkan mereka ke kloroplas. Di sisi lain, TIL tidak menunjukkan peptida penargetan, namun studi lokalisasi menunjukkan bahwa protein ditemukan pada membran plasma.

Lipocalin adalah protein pengikatan ligan kecil dengan struktur tersier sederhana yang memberi mereka kemampuan untuk mengikat molekul kecil,

umumnya hidrofobik. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa lipocalin hewan memainkan peran penting dalam pengaturan proses perkembangan dan terlibat dalam toleransi terhadap stres oksidatif. Tanaman juga memiliki berbagai jenis lipocalin, dan analisis bioinformatika telah meramalkan bahwa beberapa anggota lipocalin dapat hadir di kloroplas (Tremblay, 2009)

Analisis ekspresi dengan PCR real-time kuantitatif menunjukkan bahwa ekspresi liposin terigu (*Triticum aestivum*) dan lipokalin, berhubungan dengan respons stres abiotik dan berkorelasi dengan kapasitas produksi untuk mengembangkan toleransi dingin. Untuk mendukung korelasi ini, hasil data mining menunjukkan bahwa lipocalins terdapat pada alga merah pengeringan-pengeringan *Porphyra yezoensis* dan ragi laut kreteria *Debaryomyces hansenii*, menyatakan adanya kemungkinan hubungan dengan organisme yang tahan stres. Mengingat sifat lipokalin tanaman, spesifisitas jaringan, respon terhadap tekanan suhu, dan hubungannya dengan kloroplas dan membran plasma daun hijau, peneliti memiliki hipotesis fungsi protektif dari sistem fotosintesis terhadap tekanan suhu. Analisis filogenetik menunjukkan bahwa anggota lipocalin TIL di tanaman yang lebih tinggi mungkin diwarisi dari gen bakteri yang ada pada eukariota uniseluler primitive (Charron *et al.*, 2005)