

**Kekerabatan Genetik Tanaman Jambu Bol (*Syzygium malaccense* [L.] Merr. & Perry)
Berdasarkan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

***Genetic Relationship of Jambo Bol (*Syzygium malaccense* [L.] Merr. & Perry) Based on
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Marker***

Rosmaina¹, Zulfahmi^{1*}, dan Desen Handoyo²

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim (UIN SUSKA) Riau

²Alumni Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim (UIN SUSKA) Riau

Diterima 13 Mei 2013/Disetujui 2 Juli 2013

ABSTRAK

Jambu bol (*Syzygium malaccense* [L.] Merr. & Perry) merupakan tanaman yang memiliki nilai ekonomi yang penting, baik sebagai tanaman buah maupun tanaman obat. Penelitian ini bertujuan mengetahui tingkat keragaman dan kekerabatan genetik antara tanaman jambu bol di Kabupaten Kampar berdasarkan penanda RAPD. Enam kultivar jambu bol dianalisis dengan menggunakan sepuluh primer acak. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sepuluh primer yang terseleksi menghasilkan 219 fragmen pita DNA yang ukuran berkisar dari 188-2,028 bp (*base pairs*). Nilai keragaman genetik *S. malaccense* adalah 0.304 dan jarak genetik antar kultivar berkisar 0.263 sampai 0.631. Berdasarkan dendrogram UPGMA, tanaman jambu bol dibagi ke dalam empat kelompok. Kelompok pertama terdiri dari jambu bol tanpa biji (JTB). Kelompok kedua jambu bol buah merah (JBM), jambu bol lokal (JKL) dan jambu bol putih kehijauan (JPK). Kelompok ketiga terdiri dari jambu bol buah putih (JBP) dan kelompok keempat jambu bol daun kecil (JDK). Hasil studi ini dapat digunakan sebagai dasar untuk menyusun program pemuliaan dalam rangka perbaikan genetik jambu bol ke depannya.

Kata kunci : kekerabatan genetik, *Syzygium malaccense*, penanda RAPD

ABSTRACT

*Jambu bol (*Syzygium malaccense* [L.] Merr. & Perry) has significant economic value, as a fruit crop and medicinal plants. This research aims to study the level of genetic diversity and relationship among *S. malaccense* crops from Kampar district based on RAPD marker. Six cultivars of *S. malaccense* were analyzed using ten random primers. The results of this research showed that ten selected primers produced 219 fragments of DNA band ranging from 188-2028 bp. The genetic diversity of *S. malaccense* is 0.304, and the genetic distances among cultivars ranges from 0.253 to 0.631. Based on UPGMA dendrogram, *S. Malaccense* can be divided into four groups. The first group of *S. malaccense* is without seeds (JTB), second group is *S. malaccense* red fruits (JBM), *S. malaccense* local (JKL) and *S. malaccense* with greenish white fruits (JPK), third group is *S. malaccense* white fruits (JBP) and last group is *S. malaccense* small leaves (JDK). The result of this study can be utilized by breeders to formulate the genetic improvement program of *S. malaccense* in the future.*

Key words: genetic relationship, *Syzygium malaccense*, RAPD marker

PENDAHULUAN

Jambu bol (*Syzygium malaccense* [L.] Merr. & Perry) termasuk dalam anggota famili Myrtaceae. Jambu bol merupakan tanaman tahunan dengan tinggi berkisar 5-16 meter dan diameter batang 20-45 cm. Daun berbentuk oval sampai oblong, agak tebal, dengan panjang 10-30 cm. Buah

jambu bol merupakan buah buni, berbentuk bulat, bulat telur sampai lonjong sedangkan warna buahnya mulai dari merah jingga sampai merah tua atau kehitaman, putih kehijauan sampai kekuningan dengan ukuran buahnya 3-7 cm (Verheij & Coronel, 1991). Di Kabupaten Kampar, jambu bol ini dikenal dengan nama *jambu bulan* atau *jambu jambak*. Menurut Rukmana (1998) di Indonesia terdapat dua vaeritas lokal jambu bol yang diunggulkan, yaitu jambu bol merah Cianjur dan jambu bol putih Congkii.

*Penulis Korespondensi : fahmiuin@gmail.com

Di Kabupaten Kampar, khususnya di Kecamatan Tambang, tanaman jambu bol liar banyak ditemukan di pekarangan rumah dan kebun masyarakat. Meskipun, pengelolaan dan budidayanya belum menerapkan sistem budidaya yang tepat, tetapi buahnya cukup bagus dan bermutu serta disukai oleh konsumen sehingga bisa di jual di pasar lokal dengan harga 20.000 per kg. Di samping itu, bagian kulit batang, daun dan akar jambu bol memiliki aktivitas antibiotik sehingga dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti yang dilakukan di Hawaii dan Brasil (Verheij & Coronel, 1991). Dari sudut ekonomi, tanaman jambu bol ini memiliki propek yang potensial untuk dikembangkan dalam skala perkebunan berorientasi agrobisnis ke depannya di Kabupaten Kampar.

Mendukung usaha pengembangan jambu bol diperlukan kegiatan pemuliaan dalam upaya perbaikan karakter dan menciptakan varietas jambu bol yang berkualitas tinggi dan spesifik Kampar. Menurut Palai dan Rout (2007), informasi genetik diperlukan untuk menyusun strategi konservasi genetik dan pembangunan populasi dasar untuk kegiatan pemuliaan tanaman. Konservasi sumberdaya genetik tanaman jambu bol penting dilakukan untuk menyimpan variasi genetik dan proses evolusi spesies yang bersangkutan dalam populasi yang cocok secara ekologi untuk mencegahnya dari kepunahan. Sedangkan dalam pemuliaan tanaman informasi genetik berguna untuk membantu pemulia (*breeder*) melakukan seleksi dalam pemilihan tetua jambu bol yang akan digunakan, deteksi keaslian bibit dan perlindungan varietas/kultivar.

Informasi genetik tanaman dapat diperoleh dengan menggunakan penanda morfologi, biokimia (isozim) dan penanda DNA molekuler. Identifikasi secara morfologi memiliki kelemahan yaitu sangat dipengaruhi oleh lingkungan, tahap perkembangan tanaman, membutuhkan waktu yang lama dan sering tidak konsisten. Penanda isozim adalah deteksi variasi organisme berdasarkan elektroporesis protein (produk ekspresi gen) yang divisualisasikan menggunakan pewarnaan substrat spesifik. Penanda ini banyak diaplikasikan untuk identifikasi keragaman genetik tanaman, tetapi penanda ini memiliki kelemahan yaitu sensitif terhadap pengaruh lingkungan, membutuhkan jaringan segar, variabilitas yang rendah dan tahap perkembangan tanaman (Finkeldey, 2003; Weising *et al.*, 2005). Alternatif lain adalah dengan menganalisis langsung DNA tanaman yang merupakan material genetik yang mengendalikan karakter tanaman. Pengujian menggunakan penanda DNA memiliki keuntungan dibandingkan dengan penanda lainnya, yaitu tidak dipengaruhi lingkungan, tidak tergantung musim, tidak dipengaruhi perkembangan dan umur tanaman.

RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan salah satu penanda DNA yang banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik tanaman, identifikasi tanaman, konservasi plasma nutfah, genetik populasi telah dilaporkan di antaranya oleh Ruwaida *et al.* (2009); Pharmawati, (2009); Sumiyati *et al.* (2009); Palai dan Rout (2007), Sobir *et al.* (2005); dan Karsinah *et al.* (2002);

Yang & Quiros (1993). Penanda RAPD memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan penanda lainnya, yaitu secara teknik RAPD lebih mudah, tidak membutuhkan keahlian khusus, lebih murah, contoh DNA yang diperlukan cukup sedikit untuk amplifikasi, tidak membutuhkan informasi sekuen DNA tanaman yang akan dianalisis, tidak menggunakan radioisotop dan cepat dalam penyediaan informasi genetik tanaman (Welsh dan McClelland, 1990; Williams *et al.*, 1990; Spooner *et al.*, 2005; Weising *et al.*, 2005; Muchugi *et al.*, 2008). Meskipun demikian, RAPD memiliki keterbatasan, yaitu sifatnya yang dominan dan untuk meminimalkan pengaruh sifat dominan tersebut terhadap analisis genetik beberapa strategi telah diterangkan oleh Lynch dan Milligan (1994). Berdasarkan studi literatur yang penulis lakukan, belum ada laporan penelitian genetik tanaman jambu bol, ini adalah laporan pertama khususnya di Kabupaten Kampar, Riau. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui tingkat keragaman dan kekerabatan genetik tanaman jambu bol dengan menggunakan penanda molekuler RAPD.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pemuliaan dan Genetika, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau pada bulan Januari-Maret 2012.

Koleksi Sampel dan Isolasi DNA

Enam kultivar jambu bol yaitu jambu bol tanpa biji (JTB), jambu bol buah putih (JBP), jambu bol buah merah (JBM), jambu bol berdaun kecil (JBK), jambu bol putih kehijauan (JPK) dan jambu bol lokal (JKL) dikoleksi dari pembibitan yang ada di Kecamatan Tambang, Kabupaten Kampar. Masing-masing kultivar diambil satu tanaman. Tanaman jambu bol tersebut kemudian dipelihara di *green house* Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau. Daun muda segar jambu bol dikoleksi dan dimasukkan ke dalam tabung mikro kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi DNA. DNA genom diisolasi dari jaringan daun dengan menggunakan metode *cetyltrimethyl ammonium bromide* (CTAB) yang dimodifikasi (Doyle dan Doyle, 1990). Kualitas DNA hasil isolasi diuji dengan elektroporesis pada gel agarose dengan konsentrasi 0.8% (w/v). Elektroporesis dilakukan menggunakan buffer *Tris Acetate EDTA* (TAE) 1x selama 30-45 menit pada tegangan 100 V, kemudian direndam dalam *etidium bromide* selama 15 menit dan diamati dibawah sinar UV. Dokumentasi gel dilakukan dengan menggunakan *Gel Doc System* (BioRad).

Seleksi Primer, Amplifikasi dan Elektroporesis DNA

Dua puluh (20) primer acak diujikan untuk amplifikasi DNA jambu bol. DNA hasil isolasi kemudian di-*bulk* dan digunakan sebagai sampel untuk seleksi primer. Primer yang memberikan polimorfisme yang tinggi akan dipilih dan digunakan untuk amplifikasi DNA tahap berikutnya. Amplifikasi DNA dilakukan dalam mesin PCR CFX 96 (Bio-

Rad) dengan pengaturan sebagai berikut: *pre denaturation* selama 5 menit pada suhu 95°C, kemudian diikuti 39 siklus *denaturation* selama 1 menit pada suhu 95°C, *annealing* selama 1 menit pada suhu 37°C, *extension* selama 1 menit pada suhu 72°C, dan *final extension* selama 8 menit pada suhu 72°C. Total volume reaksi PCR adalah 15 µl, yang terdiri dari 2.0 µl template DNA (5-10ng), 1.5 µl primer (5 pmol.l⁻¹), 2.5 µl air *free RNase*, 1.5 µl *Coraload* dan 7.5 µl *HotStar Taq Master Mix* (Qiagen). Hasil amplifikasi PCR dipisahkan dengan elektroporesis pada gel agarose dengan konsentrasi agarose 1.2% (w/v). Gel agarose direndam dalam larutan etidium bromide dengan konsentrasi 0.5% (v/v) selama 20 menit pada suhu ruangan, kemudian dicuci dengan air kran selama 10 menit. Pola pita yang diperoleh pada agarose diamati dibawah sinar ultra violet (UV) dan didokumentasikan dengan menggunakan *Gel Doc System* (BioRad), kemudian dipindahkan ke komputer untuk analisis pola pita yang dihasilkan. Analisis pola pita dilakukan dengan menggunakan *software Image Lab version 2.0.1* (Bio-Rad).

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil elektroforesis berupa pita-pita diskrit dengan ukuran tertentu. Pengukuran panjang pita DNA masing-masing sampel dilakukan dengan membandingkan dengan berat molekul standar DNA ladder 100 bps (Promega). Skoring pola pita didasarkan pada ada atau tidaknya pita. Profil pita DNA diterjemahkan ke dalam data biner dengan ketentuan nilai 0 untuk tidak ada pita dan nilai 1 untuk adanya pita DNA pada satu posisi yang

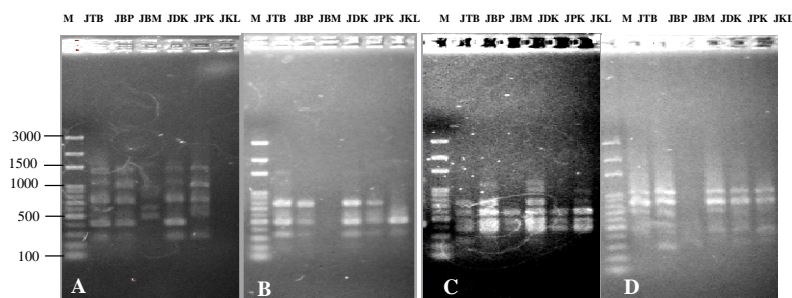
sama dari individu-individu yang dibandingkan. Parameter yang dihitung adalah keragaman genetik dan jarak genetik. Parameter tersebut dihitung dengan menggunakan *software POPGEN* versi 1.31 (Yeh *et al.*, 1999). Analisis kluster (pengelompokan) dan pembuatan dendogram dilakukan dengan metode *Unweighted Pair-Group Method Arithmetic* (UPGMA), menggunakan *software Numerical Taxonomy and Multivariate System* (NTSYS) versi 2.00 (Rohlf, 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 20 primer yang diuji, 17 primer sukses mengamplifikasi DNA sedangkan tiga primer gagal mengamplifikasi. Dari 17 primer yang sukses, dipilih 10 primer (Tabel 1) karena primer-primer tersebut menghasilkan pola pita yang lebih jelas dan polimorfik. Hasil amplifikasi PCR 10 primer terpilih menghasilkan 219 fragmen pita DNA, dengan ukuran panjang pita yang teramplifikasi berkisar antara 188-2,028 pasang basa (bp) (Tabel 1), tergantung pada jenis primer yang digunakan dan genotipe tanaman yang diuji. Jumlah pita tertinggi diperoleh pada primer OPO-11 dengan 28 pita dan jumlah pita terendah diamati pada primer OPO-5 dengan 14 pita. Pita DNA merupakan hasil pasangannya nukleotida primer dengan nukleotida genom tanaman. Oleh karena itu, semakin banyak primer yang digunakan maka semakin terwakili bagian-bagian genom tanaman (Karsinah *et al.*, 2002). Hasil amplifikasi dengan menggunakan primer OPD-3, OPO-5, OPO-6 dan OPY-14 dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Ukuran pita, jumlah lokus dan jumlah pita hasil analisis RAPD pada masing-masing primer

Primer	Urutan Basa	Ukuran Pita (bp)	Jumlah Pita
OPD-3	5'GTCGCCGTCA'3	263-1859	22
OPO-5	5'CCCAGTCACT'3	300-733	14
OPO-6	5'CCACGGGAAG'3	235-1189	27
OPO-11	5'GACAGGAGGT'3	188-1534	28
OPO-13	5'GTCAGAGTCC'3	268-1742	20
OPO-16	5'TCGGCGGTTTC'3	300-1374	24
OPY-8	5'AGGCAGAGCA'3	349-944	15
OPY-14	5'GGTCGATCTG'3	279-1135	18
OPY-15	5'AGTCGCCCTT'3	267-2028	23
OPY-20	5'AGCCGTGGAA'3	241-1572	28
Total			219



Gambar 1. Pola pita jambu bol pada primer. [A] OPD-3; [B] OPO-5.[C] OPO-6, dan [D] OPY-14.

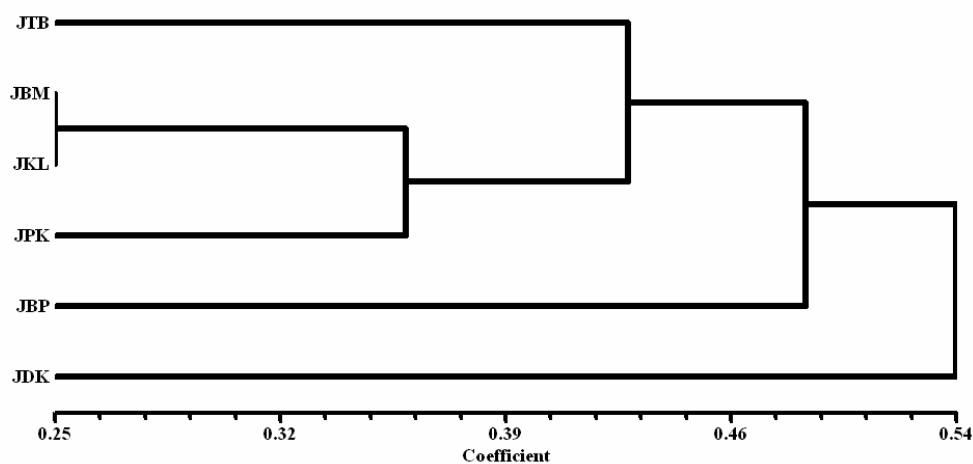
Hasil studi ini menunjukkan bahwa nilai keragaman genetik jambu bol adalah 0.304. Nilai keragaman ini tergolong sedang, hal ini terkait dengan sistem penyerbukan tanaman jambu bol yang menyerbuk silang dengan bantuan serangga. Jarak genetik merupakan parameter yang digunakan untuk melihat kekerabatan genetik spesies yang diteliti, nilainya berkisar dari 0-1 (Finkeldey, 2003). Nilai 0 menunjukkan bahwa spesies-spesies yang diamati memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat dan nilai 1 menunjukkan bahwa spesies-spesies yang diamati memiliki hubungan kekerabatan yang jauh. Nilai jarak genetik antara kultivar tanaman jambu bol dalam studi ini berkisar antara 0.253-0.631 seperti terlihat pada (Tabel 2). Jarak genetik terendah yang diamati adalah jambu bol lokal (JKL) dengan jambu bol buah merah (JBM) yaitu 0.253, sedangkan jarak genetik tertinggi terlihat pada Jambu bol daun kecil (JDK) dengan jambu bol tanpa biji (JTB) dan jambu bol buah putih (JBP) yaitu 0.631. Analisis kluster tanaman jambu bol berdasarkan UPGMA menghasilkan dendrogram seperti terlihat pada Gambar 3. Pada jarak genetik 0.39 tanaman jambu bol dapat dikelompokkan menjadi empat kelompok,

yaitu kelompok pertama terdiri dari jambu bol tanpa biji (JTB), kelompok kedua terdiri dari dua sub kelompok, yaitu sub-kelompok pertama terdiri dari jambu bol buah merah (JBM) dan jambu bol lokal (JKL), sedangkan sub-kelompok kedua terdiri dari jambu bol putih kehijauan (JPK), kelompok ketiga dan keempat masing-masing hanya terdiri dari satu kultivar yaitu jambu bol buah putih (JBP) dan jambu bol daun kecil (JDK).

Dari nilai jarak genetik dan dendrogram dapat disimpulkan bahwa jambu bol lokal (JKL) dengan jambu bol buah merah (JBM) memiliki hubungan kekerabatan yang dekat, sedangkan jambu bol daun kecil (JDK) dengan jambu bol tanpa biji (JTB) dan jambu bol buah putih (JBP) memiliki hubungan kekerabatan yang jauh. Berdasarkan dendrogram ini dapat dilihat bahwa jambu bol buah merah (JBM) dengan Jambu bol lokal (JKL) berada dalam satu kelompok. Hasil ini sesuai dengan pengamatan secara morfologi di *green house* bahwa jambu bol buah merah dengan jambu bol lokal memiliki bentuk daun yang hampir sama, hanya saja perbedaannya terletak pada jumlah tulang daun, selain itu warna buah jambu bol lokal berwarna merah sampai merah bergaris putih.

Tabel 2. Nilai jarak genetik jambu bol berdasarkan Nei (1972)

Jenis	JTB	JBP	JBM	JDK	JPK	JKL
JTB	0					
JBP	0.5360	0				
JBM	0.3461	0.3612	0			
JDK	0.6313	0.6313	0.3766	0		
JPK	0.5269	0.5636	0.3092	0.5451	0	
JKL	0.4243	0.4915	0.2528	0.4915	0.4162	0



Gambar 3. Dendrogram enam sampel jambu bol yang dihasilkan dari analisis NTSYS gabungan sepuluh primer

Informasi mengenai hubungan kekerabatan antar jenis jambu bol ini dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam menyusun strategi pemuliaan jambu bol di masa mendatang, seperti dalam pemilihan tetua yang akan digunakan dalam persilangan. Dalam persilangan, semakin jauh jarak genetik antar tetua yang digunakan, maka peluang mendapatkan hasil persilangan dengan tingkat heterosis yang tinggi akan semakin besar. Selain itu, untuk meningkatkan heterozigositas suatu jenis tanaman maka persilangan dilakukan pada jenis tanaman yang memiliki jarak genetik jauh dan untuk meningkatkan homozigositas suatu tanaman maka persilangan dilakukan pada jenis tanaman yang memiliki jarak genetik dekat. Hadiati (2003) menjelaskan untuk merakit varietas unggul, penentuan tetua persilangan perlu diperhatikan. Jarak genetik dan hubungan kekerabatan dapat digunakan sebagai indek dalam pemilihan tetua.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini didapatkan nilai keragaman genetik tanaman jambu bol adalah 0.304 dan jarak genetiknya berkisar dari 0.253-0.631.

DAFTAR PUSTAKA

- Doyle, J.J., dan J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13-15.
- Finkeldey, R. 2003. *An Introduction of Forest Genetic. Institute of Forest Genetic and Tree Breeding.* Universitas Goettingen, Germany.
- Hadiaty, S. 2003. Pendugaan jarak genetik dan hubungan kekerabatan nenas berdasarkan analisis isozim. *J. Hortikultura*. 13(2):87-94.
- Karsinah, S., L. Sulistyowati., dan H. Aswidinnoor. 2002. Keragaman genetik plasma nutfah jeruk berdasarkan analisis penanda RAPD. *J. Bioteknologi Pertanian*. 7(1):8-16.
- Lynch, M., dan B.G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*. 3:91-99.
- Muchugi, A., C. Kadu., R. Kindt., H. Kipruto., S. Lemurt., K. Olale., P. Nyadoi., I. Dawson., dan R. Jamnadass. 2008. Molecular Markers for Tropical Trees, A Practical Guide to Principles and Procedures. *Dalam: Dawson I. dan Jamnadass R. (Peny.). ICRAF Technical Manual No. 9.* World Agroforestry Centre, Nairobi.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 106:283-292.
- Palai, S.K., dan G.R. Rout. 2007. Identification and genetic variation among eight varieties of ginger by using random amplified polymorphic DNA markers. *Plant Biotechnology*. 24:417-420.
- Rukmana, H.R. 1998. *Budidaya Jambu Bol.* Kanisius, Yogyakarta.
- Ruwaida, I., P. Supriadi, dan Parjanto. 2009. Variability analysis of sukun durian plant (*Durio zibethinus*) based on RAPD Marker. *Bioscience*. 1(2):84-91.
- Rohlf F.J. 1998. *NTSYSpc: Numerical Taxonomy.* Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook.
- Spooner, D., R. Van-Treuren, dan M.C. De-Vicente. 2005. Molecular markers for gene bank management. IPGRI Technical Bulletin No. 10. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Sobir, D.G, dan I. Septimayani. 2005. Analisis keragaman genetik enam belas aksesi blewah (*Cucumis melo* L) dengan metode Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Gakuryoku*. XI(2):177-180.
- Sumiyati, D., F.G. Dwiwati., Istomo dan I.Z. Siregar. 2009. Evaluasi pertumbuhan dan keragaman genetik tanaman palahlar gunung (*Dipterocarpus retusus* blume.) dan Palahlar (*Dipterocarpus hasseltii* blume.) berdasarkan penanda RAPD. *Journal Manajemen Hutan Tropika*, XV(3):109-116.
- Verheij, E.W.M., dan R.E. Coronel. 1991. Buah-buahan yang dapat dimakan. *Dalam: Danimihardja,S; Sutarno, H; Utami, N.W., dan Hoesen, D.S.H. (Peny.). Plant Resources of South-East Asia 2: Edible Fruits and Nuts.* PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Weising, K., H. Nybom., K. Wolff., dan G. Kahl. 2005. *DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and Applications.* Edisi ke 2. Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Welsh, J., dan McClelland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*. 18:7213-7218.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik., K.J. Livak., J.A. Rafalski., dan S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primer are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. 18(22):6531-6535.
- Yang, X. dan C. Quiros. 1993. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 86:205-212.
- Yeh, F.C., R. Yang., dan T. Boyle. 1999. *POPGEN Version 1.31. Microsoft Window based for population genetic analysis.* Department Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.