



Toksisitas beberapa jenis fungisida komersial pada serangga penyerbuk, *Trigona (Tetragonula) laeviceps* Smith

Toxicity of some commercial fungicides to pollinator,
Trigona (Tetragonula) laeviceps Smith

Ida Kinasih¹, Rusdy Syachrul Nugraha², Ramadhani Eka Putra^{2*},
Agus Dana Permana², Mia Rosmiati²

¹Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati Bandung, Jalan A.H. Nasution No. 105, Cipadung, Cibiru, Bandung 40614

²Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung
Jalan Ganesha No. 10, Bandung 40132

(diterima Oktober 2016, disetujui Maret 2017)

ABSTRAK

Salah satu pestisida yang umum digunakan pada sistem perkebunan adalah fungisida. Walaupun spesifik didesain untuk mengatasi serangan cendawan, beberapa penelitian menunjukkan bahwa fungisida memiliki efek neurotoksik terhadap hewan uji. Hal ini memberikan potensi merugikan bagi hewan-hewan non target yang menguntungkan pada sistem pertanian, seperti serangga penyerbuk. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan toksisitas dari fungisida yang beredar di pasaran pada salah satu agen penyerbuk *Trigona (Tetragonula) laeviceps* Smith, dengan parameter toksisitas berupa nilai LD₅₀ dan *Hazard Quotient* (HQ). Fungisida yang diujikan adalah dari golongan triazole (triadimefon dan difenoconazole), golongan propamokarb (propamokarb HCl), dan golongan ditiokarbamat (mankozebe dan propineb). Lebah pencari makanan *T. laeviceps* dikoleksi dan dianestesi dengan suhu -10 °C selama 1 menit. Sebanyak 1 µl larutan triadimefon, difenoconazole, propamokarb HCl, mankozeb, dan propineb diaplikasikan secara topikal dengan *microsyringe* di bagian dorsal lebah. Setiap kelompok perlakuan terdiri atas 10 individu lebah yang diulangi sebanyak tiga kali. Pengamatan mortalitas lebah dilakukan 48 jam setelah aplikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai LD₅₀ (48 jam) dan HQ untuk fungisida uji adalah triadimefon 13,43 ± 1,78 µg/lebah, HQ = 18,62; difenoconazole 9,25 ± 1,21 µg/lebah, HQ = 27,03; propamokarb HCl 270,45 ± 19,48 µg/lebah, HQ = 14,34; mankozeb 3,75 ± 0,47 µg/lebah, HQ = 512; dan propineb 9,71 ± 2,20 µg/lebah, HQ = 144,18. Dari kelima fungisida, terdapat dua fungisida yang memiliki toksisitas moderat dan memiliki potensi menyebabkan mortalitas bagi lebah pencari makanan dan merugikan bagi koloni lebah saat aplikasi di lapangan, yaitu mankozeb dan propineb.

Kata kunci: ditiokarbamat, *Hazard Quotient*, LD₅₀, propamokarb HCl, triazole

ABSTRACT

Fungicide is one of the common pesticide applies in agriculture. Even though fungicide is specifically designed to prevent growth of fungi, some studies reported neurotoxic effects of fungicide to some tested animals. Therefore there are concerns about the possible detrimental effects of fungicide to beneficial non target organisms, like pollinating insects. This study was conducted to determine the toxicity of commercial fungicide to pollinator, *Trigona (Tetragonula) laeviceps* Smith, by determining the LD₅₀ and hazard quotient (HQ). The fungicides tested were triazole (tridimefon and difenoconazole), propamocarb (propamocarb HCl), and dithiocarbamate (mancozeb and

*Penulis korespondensi: Ramadhani Eka Putra. Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung
Jalan Ganesha No. 10, Bandung 40132, Tel: (022) 251 1575, Faks: (022) 253 4107, Email: ramadhani@sith.itb.ac.id.

propineb). Forager bees were collected and anesthetized by exposing the bees to low temperature (-10 °C) for 1 min. About 1 µl of tiadimefon (6,25; 12,5; 25; 37,25; 50 µg/bee), difenoconazole (1,25; 2,5; 5; 6,25; 12,5; 25 µg/bee), propamocarb HCl (72,25; 144,5; 216,6; 361,25; 433,5 µg/bee), mancozeb (1,6; 3,2; 4,8; 6,4; 8 µg/bee), and propineb (0,9; 1,8; 2,7; 6; 8,4; 16,8; 25,2 µg/bee) were applied using topical application on dorsal area of bees. Ten bees were used for each concentration and replicated 3 times. Mortality of bees was recorded for 48 hours. Results showed that LD₅₀ and HQ for each tested fungicide were as follow: triadimefon LD₅₀ 13.43 ± 1.78 µg/bee, HQ = 18.62; difenoconazole LD₅₀ 9.25 ± 1.21 µg/bee, HQ = 27.03; propamocarb HCl LD₅₀ 270.45 ± 19.48 µg/bee, HQ = 14.34; mancozeb LD₅₀ 3.75 ± 0.47 µg/bee, HQ = 512; and propineb LD₅₀ 9.71 ± 2.20 µg/bee, HQ = 144.18. Among all 5 tested fungicide, two fungicide, mancozeb and propineb, has intermediate level of toxicity to foragers of *T. laeviceps* and could produce detrimental effect to colony.

Key words: dithiocarbamate, Hazard Quotient, LD₅₀, propamocarb HCl, triazole

PENDAHULUAN

Penyerbukan merupakan proses paling penting dalam pembentukan biji dan buah pada tanaman berbunga (Heard 1999). Beberapa hasil penelitian terdahulu telah menunjukkan peran besar dari serangga dalam membantu proses penyerbukan baik pada tumbuhan liar (Larson & Barrett 2000) maupun pada tanaman produksi (Klein et al. 2007; Garibaldi et al. 2013).

Pada saat ini, terdapat peningkatan kekhawatiran akan kehilangan serangga-serangga liar yang berperan sebagai penyerbuk alami (Biesmeijer et al. 2006) dan kerugian ekonomi yang dapat ditimbulkan bila hal tersebut terjadi (Potts et al. 2010). Kehilangan serangga-serangga ini sendiri umumnya dipicu oleh perubahan tata guna lahan yang dapat menurunkan jumlah habitat alami atau semialami (Freitas et al. 2009), peningkatan intensifikasi pertanian dan penggunaan pestisida (Tscharntke et al. 2005). Untuk mengatasi kekurangan serangga-serangga penyerbuk ini maka salah satu upaya yang dilakukan adalah dengan menambah jumlah serangga tersebut pada lingkungan pertanian.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat satu jenis lebah lokal Indonesia yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen penyerbuk komersial, yaitu *Trigona* sp. (Putra & Kinasih 2014; Putra et al. 2014a; Sari & Putra 2015). *Trigona* sp. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) merupakan salah satu genus lebah dari suku Meliponini. Meliponini merupakan kelompok lebah dari Famili Apidae yang memiliki karakter khas berupa sengat yang tereduksi (Heard 1999) sehingga lebih dikenal dengan lebah tanpa

sengat (*stingless bee*). Meliponini merupakan lebah non-*Apis* lokal yang seringkali ditemukan dalam jumlah besar sebagai pengunjung bunga dan memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai polinator di sistem pertanian (Mairawita et al. 2012; Putra & Kinasih 2014). Meliponini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan *Apis*, yaitu tidak berbahaya, dapat digunakan pada rumah kaca, dan relatif lebih resisten terhadap serangan penyakit dan parasit yang menyerang lebah *Apis*. Akan tetapi, pada sistem pertanian konvensional, lebah ini sangat rentan terhadap pengaruh dari pestisida dan logam berat (Putra et al. 2014b; Putra & Badri 2016).

Salah satu pestisida yang umum digunakan pada sistem perkebunan adalah fungisida. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fungisida memiliki efek neurotoksik terhadap hewan uji (Miller 1982; Faro 2010). Akan tetapi, dengan anggapan bahwa target dari fungisida adalah spesifik bagi fungi menyebabkan penelitian efek toksisitas pada organisme non target relatif jarang ditemukan walaupun terdapat kesamaan pada beberapa struktur senyawa kimia penyusun mereka dengan senyawa kimia pada insektisida. Ditambah dengan sifat dari lebah *Trigona* sp. yang memiliki ukuran koloni kecil dan mengumpulkan makanan serta sumber daya pada sarang mereka menyebabkan kehilangan anggota koloni akan menghambat perkembangan koloni.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian toksisitas dari tiga jenis fungisida foliar yang ada di pasaran, yaitu triazole, propamocarb, dan dithiocarbamat terhadap lebah pencari makanan *Trigona* sp. Toksisitas ditentukan dari nilai LD₅₀ dan *Hazard Quotient* (HQ) dari fungisida tersebut,

kemudian diklasifikasikan berdasarkan standar EPA (2012, 2014) dan EC (2002). Pendekatan menggunakan HQ sendiri masih relatif jarang digunakan pada pengujian toksisitas bagi organisme non target walaupun metode ini sering digunakan untuk menentukan bahaya dari produk makanan yang dikonsumsi (Rantetampang & Mallongi 2013).

BAHAN DAN METODE

Tahap persiapan

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober hingga Desember 2014. Koloni lebah *Trigona (Tetragonula) laeviceps* Smith. didapatkan dari penduduk lokal di daerah Wangun Reja, Sukabumi, Jawa Barat. Koloni dipelihara di dalam sarang yang ditempatkan pada Laboratorium Toksikologi Sekolah Ilmu Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Rata-rata suhu ruangan selama penelitian adalah 25 ± 2 °C.

Lebah yang digunakan sebagai hewan uji ditangkap dari lubang sarang menggunakan tabung reaksi. Hasil tangkapan kemudian diaklimatisasi di dalam *bee cup*, yaitu gelas plastik yang ditutup *nylon mass* (diameter 1 mm) selama 24 jam (Gambar 1). Setiap kelompok perlakuan terdiri atas 10 spesimen lebah *T. laeviceps* dengan jumlah ulangan tiga kali. Selama penelitian, lebah

diberikan makanan berupa larutan gula 20% yang diteteskan pada kapas yang dipasang di lubang yang ada pada *nylon mass*.

Uji toksisitas

Larutan stok fungisida dari golongan triazole (triadimefon dan difenoconazole), propamokarb HCl, dan ditiokarbamat (mankozeb dan propineb) disiapkan dengan konsentrasi sesuai dengan Tabel 1, untuk kemudian diencerkan dengan pelarut air sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Sebelum perlakuan, *T. laeviceps* dianestesi di dalam lemari pendingin dengan suhu -10 °C selama satu menit. Larutan kontrol berupa akuades dan larutan fungisida diaplikasikan pada bagian dorsal dari toraks sebanyak 1 µl menggunakan *microsyringe* (EPA 2014).

Penentuan tingkat toksisitas fungisida

Pengamatan tingkat mortalitas lebah akibat aplikasi fungisida dilakukan pada 48 jam setelah aplikasi fungisida. Nilai mortalitas tersebut digunakan untuk mendapatkan nilai LD₅₀ dengan metode probit menggunakan perangkat lunak StatPlus 2009 Portable versi 5.8.4. Nilai LD₅₀ yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan standar EPA (2012) (Tabel 2).

Selain menggunakan LD₅₀, tingkat toksisitas fungisida juga diukur dengan menggunakan nilai *Hazard Quotient* (HQ) dengan formula sebagai berikut (EC 2002).

$$\text{Hazard Quotien} = \frac{\text{Dosis produsen (g/ha)}}{\text{LD}_{50} \text{ lebah } (\mu\text{g/lebah})}$$

Dosis produsen adalah dosis anjuran dari produsen untuk aplikasi fungisida yang diujikan pada penelitian ini (Tabel 3).

Nilai HQ kemudian dibandingkan dengan klasifikasi menurut European Commission (EC 2002) (Tabel 3 dan 4).



Gambar 1. Wadah aklimatisasi lebah (*Bee cup*).

Tabel 1. Konsentrasi fungisida untuk larutan stok dan perlakuan

Fungisida	Konsentrasi larutan stok (g/l)	Konsentrasi larutan perlakuan (µg/µl)
Triadimefon	250	0; 6,25; 12,5; 25; 37,25; 50
Difenoconazole	250	0; 1,25; 2,5; 5; 6,25; 12,5; 25
Propamokarb HCL	722	0; 72,25; 144,5; 216,6; 361,25; 433,5
Mankozeb	21	0; 1,6; 3,2; 4,8; 6,4; 8
Propineb	28	0; 0,9; 1,8; 2,7; 6; 8,4; 16,8; 25,2

HASIL

Nilai LD₅₀ fungisida uji terhadap *Trigona* sp.

Nilai LD₅₀ terendah tercatat untuk mankozeb ($3,75 \pm 0,47$ µg/lebah; $\alpha = 0,05$; $R^2 = 0,935$) diikuti dengan difenoconazole ($9,25 \pm 1,21$ µg/lebah; $\alpha = 0,05$; $R^2 = 0,915$), propineb ($9,71 \pm 2,20$ µg/lebah; $\alpha = 0,05$; $R^2 = 0,808$), triadimefon ($13,43 \pm 1,78$ µg/lebah; $\alpha = 0,05$; $R^2 = 0,975$), dan propamokarb HCl ($270,45 \pm 19,48$ µg/lebah ($\alpha = 0,05$; $R^2 = 0,957$) (Tabel 5).

Dengan menggunakan standar EPA (2014), dapat dinyatakan bahwa mankozeb, difenoconazole, dan propineb memiliki tingkat toksisitas moderat terhadap *T. laeviceps*, sedangkan triadimefon dan propamokarb tidak bersifat toksik.

Hazard Quotient dari fungisida uji

Nilai HQ tertinggi dimiliki oleh fungisida turunan karbamat (ditiokarbamat), yaitu

Tabel 2. Klasifikasi toksisitas berdasarkan nilai LD₅₀ (EPA 2012)

LD ₅₀ (µg/lebah)	Klasifikasi toksisitas
< 2	Tinggi
2–10,99	Moderat
> 11	Tidak beracun

Tabel 3. Dosis anjuran produsen untuk aplikasi fungisida

Fungisida	Dosis produsen (g/ha)
Triadimefon	250
Difenoconazole	250
Propamokarb HCl	2166
Propineb	1400
Mankozebe	1920

Tabel 4. Klasifikasi toksisitas berdasarkan nilai HQ (EC 2002)

Hazard Quotient	Klasifikasi toksisitas
<50	Rendah
50–2500	Moderat
>2500	Tinggi

Tabel 5. Perbandingan toksisitas antara klasifikasi EPA dan Hazard Quotient

	Triadimefon	Difenoconazole	Propamokarb HCl	Propineb	Mankozebe
LD ₅₀ (µg/lebah)	$13,43 \pm 1,78$	$9,25 \pm 1,21$	$270,45 \pm 19,48$	$9,71 \pm 2,20$	$3,75 \pm 0,47$
Klasifikasi EPA	Nontoksik	Toksik moderat	Nontoksik	Toksik moderat	Toksik moderat
Hazard Quotient	18,60	27,03	8,01	144,18	512,00
Klasifikasi (EC 2002)	Nontoksik	Nontoksik	Nontoksik	Toksik moderat	Toksik moderat

mankozebe (512) dan propineb (144,18) yang digolongkan sebagai toksik moderat, namun fungisida turunan karbamat lainnya (propamokarb HCl), menempati urutan terakhir dengan nilai HQ 8,01 yang tergolong sebagai senyawa nontoksik bagi *T. laeviceps* (Tabel 5). Penelitian ini juga menunjukkan bahwa difenoconazole dengan nilai LD₅₀ yang tergolong sebagai toksik moderat berdasarkan EPA dikategorikan sebagai senyawa dengan toksisitas rendah berdasarkan standar Hazard Quotient untuk *Trigona* sp. Hal tersebut dikarenakan dosis aplikasi yang dianjurkan oleh produsen sangat rendah sehingga kemungkinan senyawa difenoconazole untuk menyebabkan kematian bagi lebah relatif lebih rendah.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ditemukan efek toksik akut dari seluruh jenis fungisida yang diaplikasikan kecuali pada kelompok triadimefon dan propamokarb HCl. Hal ini diduga berkaitan dengan *mode of action* dari kedua senyawa ini terhadap sistem syaraf dari lebah.

Pemberian triadimefon diduga dapat meningkatkan konsentrasi dopamine intraseluler melalui peningkatan laju pelepasan dopamin atau penghambatan proses penyerapan kembali dopamin oleh terminal akson (Gagnaire & Micilino 2006; Faro 2010). Peningkatan dopamin dapat mengakibatkan pengurangan sensitifitas lebah terhadap sukrosa, ditandai dengan probosis lebah yang tidak menjulur pada saat diberikan larutan gula 30% (Scheiner et al. 2002). Pada penelitian ditemukan bahwa lebah yang diberikan triadimefon lebih jarang mendekati makanan dibandingkan dengan kontrol. Hal ini diduga karena dopamin sebagai amino *biogenic* meningkatkan *threshold* dari stimulus sukrosa sehingga mengurangi sensitifitas (Chapman 2013). Efek ini tidak menimbulkan kematian akut pada *T. laeviceps*, akan tetapi penurunan sensitivitas terhadap

sukrosa memiliki kemungkinan menjadi penyebab penurunan kemampuan dalam mencari makanan. Akibatnya, dapat fatal bagi pertumbuhan koloni pada jangka panjang karena kemampuan pekerja dalam mencari makanan berkurang, namun hipotesis ini perlu diuji lebih lanjut.

Pada sisi lain, propamiocarb HCl merupakan fungisida golongan karbamat, namun memiliki beberapa perbedaan pada struktur kimianya. Pada propamiocarb HCl tidak ditemukan adanya gugus metil, yaitu gugus pada carbamate yang berperan sebagai inhibitor enzim Acetylcholinesterase (AChE) (Waymire 2000). Oleh karena itu, propamiocarb HCl tidak beracun terhadap hewan (Krieger 2001).

Penelitian ini menunjukkan perbedaan pada level toksisitas pada difenoconazole yang menurut standar EC dinyatakan tidak toksik, sedangkan pada standar EPA dinyatakan memiliki toksisitas moderat. Perbedaan ini menunjukkan bahwa senyawa ini cukup beracun bagi lebah, akan tetapi level aplikasi yang rendah menurunkan kemungkinan pendedahan pada lebah pencari makan. Senyawa ini merupakan fungisida *foliar* dengan spektrum luas yang termasuk golongan triazole. Difenoconazole mengakibatkan hipotermia pada lebah karena memiliki efek inhibitor terhadap ATP-ase dan *cytochrome* P450 (Vandame & Belcunces 1998). Lebah pencari makanan menghabiskan hampir seluruh aktivitasnya di luar sarang dan terpisah dari koloninya sehingga tidak mendapatkan keuntungan dari mekanisme homeostatis panas yang terdapat pada sarang. Bagi lebah dengan ukuran kecil, seperti *T. laeviceps*, hipotermia akut dapat mengakibatkan kematian mendadak pada lebah pencari makanan. Respons yang dilakukan oleh koloni lebah tidak bersengat (Meliponini, kelompok besar lebah dimana *T. laeviceps* termasuk sebagai salah satu anggotanya) saat terjadi penurunan jumlah lebah pencari makanan adalah dengan mengalokasikan lebah pekerja pada koloni menjadi lebah pencari makanan (Hofstede 2005). Kondisi ini sangat berbahaya bagi koloni pada jangka panjang karena tidak, seperti lebah madu, koloni lebah tidak bersengat memiliki anggota dan produksi *brood* yang relatif rendah sehingga sedikit menyediakan tenaga cadangan untuk mengatasi kehilangan lebah pencari makanan. Kemungkinan lain adalah

saat jumlah anggota koloni berkurang, koloni akan merespons dengan menambah proses reproduksi. Pada saat terjadi peningkatan jumlah *brood* maka akan terjadi peningkatan kegiatan pencarian polen sebagai sumber makanan utama *brood* (Biesmeijer et al. 1999), diantaranya dengan meningkatkan jumlah polen yang dibawa lebah pencari makanan (Ramalho et al. 1998). Peningkatan jumlah polen yang dibawa oleh lebah pencari makanan akan meningkatkan tekanan pada cadangan nektar di dalam koloni karena terjadinya peningkatan konsumsi cadangan makanan sebagai sumber energi utama bagi lebah pencari makanan yang terspesialisasi untuk mencari polen (Leonhardt et al. 2007).

Penelitian ini menunjukkan efek toksik dan level kemungkinan pendedahan yang tinggi pada propineb dan mankozeb bagi lebah *T. laeviceps*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa propineb dapat meningkatkan konsentrasi Acetylcholine (ACh) pada sel syaraf melalui tiga mekanisme. Pada mekanisme pertama, propineb berinteraksi dengan reseptor nikotinic sehingga menstimulus pelepasan ACh (Marinovich et al. 2002). Mekanisme kedua adalah propineb menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran sehingga memberikan stimulus palsu pada sel untuk melepaskan ACh (Viviani et al. 2008). Mekanisme ketiga, propineb dapat menghambat enzim AChE, sebagai mekanisme dasar dari turunan carbamate sehingga mengakibatkan akumulasi ACh pada ruang antar sinaps (Krieger 2001). Pelepasan ACh secara kontinu mengurangi cadangan neurotransmitter dan akumulasi ACh pada ruang antar sinaps mengganggu transmisi sinyal pada *neuromuscular junction* sehingga dapat menyebabkan gangguan motorik. Pada lebah *Apis mellifera* Linnaeus ditemukan bahwa inhibisi AChE menyebabkan gangguan perilaku *righting reflex* dan gangguan kerja perut yang berakibat pada pengeluaran feses berlebihan (Williamson et al. 2013). Gangguan pada perilaku *righting reflex* sangat berbahaya pada lebah pekerja karena mengurangi kemampuan terbang dan mencari makanan. Di sisi lain, peningkatan produksi feses dapat menyebabkan penumpukan feses pada koloni sehingga meningkatkan infeksi dari parasit sehingga dapat mengakibatkan kematian pada koloni lebah (Alaux et al. 2010).

Pada sisi lain, mankozeb diketahui dapat berinteraksi dengan enzim AChE sehingga menyebabkan enzim AChE tidak aktif (Kackar et al. 1999). Enzim AChE diperlukan untuk terminasi kerja ACh setelah diterima oleh reseptor. Ketidakterdapatnya enzim ini akan menyebabkan penumpukan ACh pada ruang sinapsis sehingga selalu mengaktifkan reseptor ACh dimana dapat menyebabkan paralisis lalu kematian pada level individu (Krieger 2001). Selain itu, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, inhibisi AChE dapat menyebabkan gangguan perilaku *righting reflex* dan gangguan kerja perut yang dapat berakibat kematian baik pada tingkatan individu hingga tingkatan koloni (Alaux et al. 2010; Williamson et al. 2013).

KESIMPULAN

Dua jenis fungisida, yaitu mankozeb dan propineb, dapat memberikan efek toksisitas cukup tinggi terhadap lebah *T. laeviceps*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian dibiayai melalui dana penelitian Desentralisasi DIKTI 2013 berkaitan dengan bahan penelitian serta skema Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi 2017 berkaitan dengan persiapan publikasi. Kedua dana diterima oleh penulis korespondensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alaux C, Brunet J, Dussaubat C, Mondet F, Tchamitchan S, Cousin M, Brillard J, Baldy A, Belzunces LP, Conte YL. 2010. Interactions between *Nosema microspores* and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology* 12:774–782. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x>.
- Biesmeijer JC, Born M, Lokacs S, Sommeijer MJ. 1999. The response of the stingless bee *Melipona beecheii* to experimental pollen stress, worker loss and different levels of information input. *Journal of Apicultural Research* 38:33–41. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.1999.11100993>.
- Biesmeijer JC, Roberts SPM, Reemer M, Ohlemuller R, Edwards M, Peeters T, Schaffers AP, Potts SG, Kelukers R, Thomas CD, Settele J, Kunin WE. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and The Netherlands. *Science* 313:351–354. doi: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1127863>.
- Chapman R. 2013. *The Insect: Structure and Function* 5th ed. New York: Cambridge University Press.
- [EC] European Commission. 2002. *Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology Under Council Directive 91/414/EEC*. Brussels: European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General.
- [EPA] Environmental Protection Agency. 2014. *Guidance for Assessing Pesticide Risks to Bees*, Washington DC: United States Environmental Protection Agency.
- EPA. 2012. Lethal Dosage (LD₅₀) Values. Available at: <http://www.epa.gov/agriculture/ag101/pestlethal.html>. [accessed 2012].
- Faro LRF. 2010. Neurotoxic effect of triazole fungicides on nigrostriatal dopaminergic neurotransmission. In: Carisse O (Ed.) *Fungicide*. pp. 405–420. Rijeka, Croatia: InTech.
- Freitas BM, Fonseca VLI, Medina LM, Kleinert AMP, Galetto L, Nates-Parra, Quezada-Euan JJG. 2009. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. *Apidologie* 40:332–46. doi: <http://dx.doi.org/10.1051/apido/2009012>.
- Gagnaire F, Micilino J. 2006. Effect of triadimefon on extracellular dopamine, DOPAC, HVA, and 5-HIAA in adult rat striatum. *Toxicology* 217:91–104. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2005.08.021>.
- Garibaldi LA, Stefan-Dewenter I, Winfree R, Aizen MA, Bommarco R, Cunningham SA, Kremen C, Carvalheiro LG, Harder LD, Afik O, Bartomeus I, Benjamin F, Boreux V, Cariveau D, Chacoff NP, Dudenhoffer JH, Freitas BM, Ghazoul J, Greenleaf S, Hipolito J, Holzschuh A, Howlett B, Isaacs R, Javorek SK, Kennedy CM, Krewenka KM, Krishnan S, Mandelik Y, Mayfield MM, Motzke I, Munyuli T, Nault BA, Otieno M, Petersen J, Pisanty G, Potts SG, Rader R, Ricketts TH, Rundlof M, Seymour CL, Schuepp C, Szentgyorgyi H, Taki H, Tschamntke T, Vergara CH, Viana BF, Wanger TC, Westphal C, Williams N, Klein AM. 2013. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* 339:1608–1611. doi: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1230200>.
- Heard T. 1999. The role of stingless bees in crop pollination. *Annual Review of Entomology*

- 44:183–206. doi: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ento.44.1.183>.
- Hofstede FE. 2005. The allocation of foragers to a new foraging task in the stingless bee *Plebeia tobagoensis* (Hymenoptera, Meliponini). In: Bruin J (Ed.) *Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting Volume 16*. pp. 91–94. Netherlands: Nederlandse Entomologische Vereniging.
- Kackar R, Srivastava M, Raizada R. 1999. Assessment of toxicological effects of mancozeb in male rats after chronic exposure. *Indian Journal of Experimental Biology* 37:553–559.
- Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences* 274:303–313. doi: <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>.
- Krieger R. 2001. *Handbook of Pesticide Toxicology*, 2nd ed. San Diego: Academic Press.
- Larson BMH, Barrett SCH. 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of Linnean Society* 69:503–520. doi: <http://dx.doi.org/10.1006/bjpl.1999.0372>.
- Leonhardt SD, Dworschak K, Eltz T, Bluthgen N. 2007. Foraging loads of stingless bees and utilisation of stored nectar for pollen harvesting. *Apidologie* 38:125–135. doi: <https://doi.org/10.1051/apido:2006059>.
- Mairawita, Habazar T, Hasyim A, Nasir N, Suswati. 2012. Potensi serangga pengunjug bunga sebagai vektor penyakit darah bakteri (*Ralstonia solanacearum* Phylotipe IV) pada pisang di Sumatera Barat. *Jurnal Entomologi Indonesia* 9: 38–47. doi: <http://dx.doi.org/10.5994/jei.9.1.38>.
- Marinovich M, Viviani B, Capra V, Corsini E, Anselmi L, D’Agostino G, Di Nucci A, Binaglia M, Tonini M, Galli CL. 2002. Facilitation of Acetylcholine signaling by the Dithiocarbamate fungicide Propineb. *Chemical Research in Toxicology* 15:26–32. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/tx015538c>.
- Miller DB. 1982. Neurotoxicity of pesticidal carbamates. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology* 4:779–787.
- Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution* 25:345–53. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>.
- Putra RE, Kinasih I. 2014. Efficiency of local Indonesia honey bees (*Apis cerana* L.) and stingless bee (*Trigona iridipennis*) on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) pollination. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 17:86–91. doi: <http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2014.86.91>.
- Putra RE, Badri MA. 2016. Toksisitas insektisida golongan Organofosfat, Organoklorin, dan Piretroid pada lebah pencari makan *Trigona laeviceps*. Di dalam: *Proseding Seminar Nasional dan Musyawarah Anggota PEI Cabang Bandung: Entomologi dan Kesejahteraan Masyarakat (Bandung, 15 Oktober 2015)*. hlm. 101–109. Bandung: Perhimpunan Entomologi Indonesia Cabang Bandung.
- Putra RE, Permana AD, Nuriyah S. 2014a. The impact of insecticides to local honey bee colony *Apis cerana indica* in laboratory condition. *AIP Conference Proceedings* 1589:1385–388 doi: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4868824>.
- Putra RE, Permana AD, Kinasih I. 2014b. Application of asiatic honey bee (*Apis cerana*) and stingless bees (*Trigona laeviceps*) as pollinator agents of hot pepper (*Capsicum annum* L.) at local Indonesia farm system. *Psyche: A Journal of Entomology* Article ID 687979. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/687979>.
- Ramalho M, Imperatriz-Fonseca VL, Giannini TC. 1998. Within-colony size variation of foragers and pollen load capacity in the stingless bee *Melipona quadrifasciata* anthidioides Lepelletier (Apidae, Hymenoptera). *Apidologie* 29: 221–228. doi: <https://doi.org/10.1051/apido:19980302>.
- Rantetampang AL, Mallongi A. 2013. Lead contamination and its potential risks due to seafood consumption from Sentani Lake, Papua, Indonesia. *International Journal of Scientific and Research Publications* 3:1–6.
- Sari DA, Putra RE. 2015. Study on pollinator efficiency of *Trigona* sp. as pollinator of local coffee: behavior assessment. In: Hakim L et al. (Eds.) *Proceeding of 5th Basic Science International Conference (BaSIC) (Malang, 11-12 Februari 2015)*. pp. 347–350 Malang: BaSIC.
- Scheiner R, Pluckhahn S, Oney B, Blenau W, Erber J. 2002. Behavioral pharmacology of octopamine, tyramine and dopamine in honey bees. *Behavioral Brain Research* 136:545–553. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00205-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00205-X).
- Tscharntke T, Klein AM, Kruess A, Steffan-Dewenter I, Thies C. 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity-ecosystem service management. *Ecology Letters* 8:857–874. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00782.x>.

- Vandame R, Belcunces L. 1998. Joint action of deltamethrin and azole fungicide on honey bee thermoregulation. *Neuroletter Science* 251:57–60. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3940\(98\)00494-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3940(98)00494-7).
- Viviani B, Bartesaghi S, Binaglia M, Corsini E, Boraso M, Grazi E, Galli C, Marinovich M. 2008. Dithiocarbamate propineb induces acetylcholine release through cytoskeletal actin depolymerization in PC12 cells. *Toxicology Letters* 182:63–68. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.08.016>.
- Waymire J. 2000. Acetylcholine Neurotransmission. Available at: <http://neuroscience.uth.tmc.edu/s1/chapter11.html>. [accessed 2000].
- Williamson SM, Moffat C, Gomersall MAE, Saranzewa N, Connolly CN, Wright GA. 2013. Exposure to acetylcholinesterase inhibitors alters the physiology and motor function of honeybees. *Frontiers in Physiology* 4:1–10. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2013.00013>.