

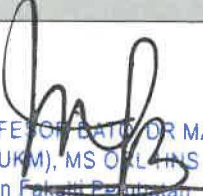
**KESAN PENDEDAHAN MEDAN
ELEKTROMAGNETIK FREKUENSI RADIO
3.5 GHZ DAN 24 GHZ TERHADAP KECEDERAAN
TESTIS DAN KUALITI SPERMA TIKUS
SPRAGUE DAWLEY JANTAN DEWASA**

SYED MUHAMAD ASYRAF BIN SYED TAHA

UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA

 UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA <i>The National University of Malaysia</i>	UKM-SPKPPP-PT(PdP)-05-AK04-BO07	No. Semakan: 02	Tarikh Kuat Kuasa: 27/01/2026
	BORANG DAN SENARAI SEMAK PENYERAHAN TESIS/DISERTASI SELEPAS PEMBETULAN FORM AND CHECKLIST OF AMENDED THESIS/DISSERTATION SUBMISSION		

F. KELULUSAN DEKAN/PENGARAH / APPROVAL FROM DEAN/DIRECTOR

Tandatangan: <i>Signature</i>	 PROFESOR DATO' DR MARINA MAT BAKI MD (UKM), MS ORL-HNS (UKM), PhD (UCL) Dekan Fakulti Perubatan Pakar Perunding Kanan ORL-HNS Universiti Kebangsaan Malaysia	Tarikh: 24/9/26 <i>Date</i>
Nama dan Cap Rasmi: <i>Name and Official Stamp</i>		

G. PERAKUAN TESIS/ DISERTASI SARJANA / DOKTOR FALSFAH (CERTIFICATION OF MASTER'S / DOCTORAL THESIS / DISSERTATION)

Nama penuh pengarang <i>(Author's Full Name)</i>	SYED MUHAMAD ASYRAF BIN SYED TAHA		
No. Pendaftaran Pelajar <i>(Student's Registration No.)</i>	P126219	Sesi Akademik <i>(Academic Session)</i>	SEMESTER 1, 2022/2023
Tajuk Tesis / Disertasi <i>(Thesis / Dissertation Title)</i>	KESAN PENDEDAHAN MEDAN ELEKTROMAGNETIK FREKUENSI RADIO 3.5 GHZ DAN 24 GHZ TERHADAP KECEDERAAN TESTIS DAN KUALITI SPERMA TIKUS SPRAGUE DAWLEY JANTAN DEWASA		

Semua tesis/disertasi dan penerbitan berkaitan hasil penyelidikan pelajar adalah tertakluk kepada Dasar Harta Intelek Universiti Kebangsaan Malaysia.
All theses/ dissertations and publications relating to the research work of a student are subject to the Intellectual Property Policy of Universiti Kebangsaan Malaysia.

Saya mengaku bahawa tahap akses tesis/disertasi ini sebagai (*Tandakan ✓ dalam kotak bagi maklumat yang berkaitan; tandakan satu (1) kotak di bawah sahaja):
I hereby declare the level of access for this thesis/dissertation as follows (tick ✓ the relevant box below; tick only one option).

Pilihan Tahap Akses Access Level Selection		Tafsiran Tahap Akses Tesis/Disertasi Definition of Thesis/Dissertation Access Level
☐	RAHSIA (CONFIDENTIAL)	Mengandungi maklumat rahsia sepertimana yang diperuntukan bawah Akta Rahsia Rasmi 1972. <i>Contains classified information as stipulated under the Official Secrets Act 1972.</i>
☐	TERHAD (RESTRICTED)	Mengandungi maklumat yang hanya boleh diakses oleh pihak yang mempunyai kebenaran atau keperluan tertentu untuk mengetahuinya yang ditentukan oleh organisasi/ badan di mana penyelidikan dijalankan. <i>Contains information that may only be accessed by parties with specific authorization</i>

 UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA <i>The National University of Malaysia</i>	UKM-SPKPPP-PT(PdP)-05-AK04-BO07	No. Semakan: 02	Tarikh Kuat Kuasa: 27/01/2026
	BORANG DAN SENARAI SEMAK PENYERAHAN TESIS/DISERTASI SELEPAS PEMBTULAN FORM AND CHECKLIST OF AMENDED THESIS/DISSERTATION SUBMISSION		

		<i>or a defined need to know, as determined by the organization or body where the research is conducted.</i>
☒	AKSES TERBUKA (OPEN ACCESS)	Tesis/disertasi versi akhir dalam format PDF yang boleh diakses secara percuma secara dalam talian dan bebas dari isu hak cipta dan pelesenan <i>The final version of the thesis/dissertation in PDF format that is freely accessible online and free from copyright and licensing issues.</i> Kementerian Pendidikan Tinggi melalui surat bertarikh 27 Mac 2025 memutuskan bahawa kebenaran akses tesis / disertasi dalam borang serahan akses terbuka ditentukan oleh penyelia (bukan pelajar). <i>The Ministry of Higher Education, through a letter dated 27 March 2025, has decided that permission for thesis / dissertation access in the open access submission form shall be determined by the supervisor (not the student).</i>
☐	EMBARGO	Tempoh masa di mana akses kepada tesis/disertasi disekat (ditutup) selama dua (2) tahun atas sebab-sebab tertentu sebagai contoh kerahsiaan atau hak cipta. Tesis/disertasi akan berstatus akses terbuka selepas tamat tempoh embargo. <i>The period during which access to the thesis/dissertation is restricted for two (2) years due to specific reasons, such as confidentiality or copyright. The thesis/dissertation will be granted open-access status upon the expiry of the embargo period.</i>

PENGESAHAN PELAJAR (STUDENT VERIFICATION)		PENGESAHAN PENYELIA (SUPERVISOR VERIFICATION)	
 TANDATANGAN PELAJAR (STUDENT'S SIGNATURE)		 TANDATANGAN PENYELIA / PENERUSI JK SISWAZAH (SUPERVISOR'S / CHAIRPERSON SUPERVISION COMMITTEE SIGNATURE)	
Nama Pelajar (Student name): Syed Muhamad Asyraf Bin Syed Taha No. Pendaftaran Pelajar (Student's Registration No.): P126219		Nama Penyelia / Pengerusi JK Siswazah : Prof. Dr Siti Fatimah Ibrahim (Supervisor's / Chairperson Supervision Committee Name)	
Tarikh: 13/09/2026 (Date)		Tarikh: 13 September 2026 (Date)	

KESAN PENDEDAHAN MEDAN ELEKTROMAGNETIK FREKUENSI RADIO
3.5 GHZ DAN 24 GHZ TERHADAP KECEDERAAN TESTIS DAN KUALITI
SPERMA TIKUS SPRAGUE DAWLEY JANTAN DEWASA

SYED MUHAMAD ASYRAF BIN SYED TAHA

TESIS YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMPEROLEH
IJAZAH DOKTOR FALSAFAH

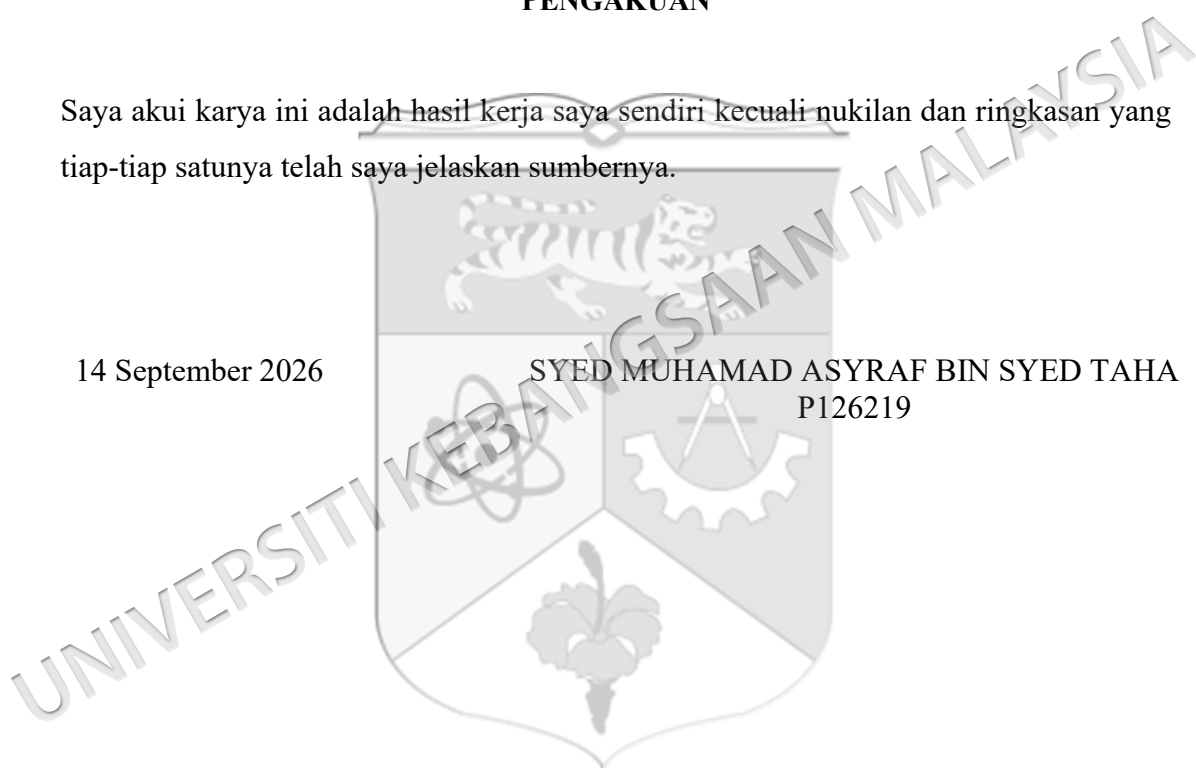
FAKULTI PERUBATAN
UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA
KUALA LUMPUR

PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang tiap-tiap satunya telah saya jelaskan sumbernya.

14 September 2026

SYED MUHAMAD ASYRAF BIN SYED TAHA
P126219



PENGHARGAAN

Bismillahirrahmanirrahim. Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT kerana dengan limpah rahmat, izin dan pertolongan-Nya, tesis ini dapat disempurnakan. Saya memanjatkan kesyukuran atas kekuatan, kesabaran dan peluang yang diberikan sepanjang perjalanan pengajian ini.

Saya merakamkan setinggi-tinggi penghargaan kepada penyelia utama saya, Prof. Dr. Siti Fatimah Ibrahim, atas bimbingan, kesabaran, kepercayaan dan komitmen sepanjang pengajian dan penyelidikan ini. Segala nasihat, teguran membina, pandangan kritis dan perkongsian ilmu beliau saya hargai. Ucapan penghargaan yang sama turut saya tujukan kepada penyelia bersama, Dr. Farah Hanan Fathihah Jaffar dan Prof. Dr. Zahriladha Zakaria, atas tunjuk ajar, sokongan dan dorongan sepanjang penyelidikan ini dijalankan.

Penghargaan yang mendalam juga saya tujukan kepada Prof. Dr. Khairul Osman atas bimbingan, kepakaran dan pandangan ilmiah dalam penambahbaikan penyelidikan ini. Ucapan terima kasih turut ditujukan kepada rakan-rakan Kumpulan Penyelidikan Gamet, iaitu Norazurashima, Atikah, Siva, Sofwa, Atiqah, Hilwani dan Hamizan, atas bantuan, perbincangan dan semangat kerjasama. Saya juga merakamkan ucapan terima kasih kepada Fakulti Teknologi dan Kejuruteraan Elektronik dan Komputer, Universiti Teknikal Malaysia Melaka, khususnya Prof. Dr. Zahriladha Zakaria dan staf sokongan yang terlibat, atas bantuan berkaitan antena, peralatan RF dan nasihat teknikal. Penghargaan turut diberikan kepada kakitangan Jabatan Fisiologi, Fakulti Perubatan UKM, khususnya Puan Aini Farzana dan Encik Mohd Farisyam atas bantuan teknikal sepanjang kerja makmal dijalankan. Tidak dilupakan rakan-rakan siswazah di Jabatan Fisiologi, terutamanya Syakirah, Iffah, Dr. Nina, Nazirah, Amanina dan Maryam, atas sokongan, bantuan dan persahabatan.

Saya merakamkan penghargaan kepada Kementerian Pendidikan Tinggi Malaysia atas sokongan dana melalui Skim Geran Penyelidikan Fundamental, FRGS/1/2022/SKK06/UKM/03/2, serta kepada Fakulti Perubatan UKM atas sokongan Geran Fundamental Fakulti Perubatan, FF-2023-176. Saya juga berterima kasih kepada Kementerian Kesihatan Malaysia atas penajaan Hadiah Latihan Persekutuan.

Akhir sekali, penghargaan yang tidak terhingga saya tujukan kepada isteri tercinta, Sharifah Nafisah Syed Shaikh, atas kesabaran, pengorbanan, doa dan sokongan yang tidak pernah putus. Buat anak-anak tersayang, Alwi, Hussein, Taha dan Ammar, kehadiran kalian menjadi sumber kekuatan saya. Ucapan terima kasih juga saya tujukan kepada ummi saya, Hajjah Saripah Maisarah Syed Zainal, atas doa dan kasih sayang yang sentiasa mengiringi saya. Buat arwah abah saya, Haji Syed Taha Syed Husain, semoga Allah SWT mencucuri rahmat ke atas roh beliau. Terima kasih kepada adik-adik saya, Akhmal, Adilla, Adib, Aiman dan Izzuddin, keluarga besar Alhindwan dan Alyahya, sahabat serta semua pihak yang membantu secara langsung atau tidak langsung. Semoga segala kebaikan kalian dibalas oleh Allah SWT.

ABSTRAK

Perkembangan pesat teknologi komunikasi tanpa wayar termasuk teknologi generasi kelima (5G) telah meningkatkan pendedahan kepada medan elektromagnetik frekuensi radio (RF-EMF), namun bukti mengenai kesannya terhadap sistem reproduktif lelaki masih terhad dan tidak konsisten. Kajian ini menilai kesan pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz terhadap kecederaan testis dan kualiti sperma tikus Sprague Dawley jantan dewasa melalui simulasi dosimetri dan eksperimen *in vivo*. Simulasi dijalankan untuk menentukan kadar penyerapan khusus (SAR) dan pola pemendapan kuasa pada jarak 5 cm dan 10 cm, manakala SAR pada jarak 20 cm dianggarkan melalui ekstrapolasi setempat. Eksperimen *in vivo* melibatkan 36 ekor tikus dalam kumpulan sham, 3.5 GHz dan 24 GHz dengan tempoh dedahan 1 jam atau 7 jam sehari selama 60 hari. Pada jarak 20 cm, anggaran SAR maksimum ialah 0.15 W kg^{-1} bagi 3.5 GHz dan $4.00 \times 10^{-7} \text{ W kg}^{-1}$ bagi 24 GHz, manakala anggaran SAR keseluruhan masing-masing ialah 0.06 W kg^{-1} dan $1.80 \times 10^{-7} \text{ W kg}^{-1}$. Pemendapan tenaga pada 3.5 GHz relatif lebih mendalam, manakala 24 GHz lebih superfisial. HSP70 menurun pada kedua-dua frekuensi selepas 1 jam, manakala selepas 7 jam HSP90 meningkat pada 3.5 GHz dan HSP27 meningkat pada 24 GHz. Pada 24 GHz, IL-10 menurun pada kedua-dua tempoh dedahan dan TNF- α menurun selepas 7 jam. Pada 3.5 GHz, *Casp3* meningkat selepas 1 jam, manakala indeks apoptotik meningkat pada kedua-dua tempoh dedahan, menunjukkan pola apoptosis testis yang lebih jelas. Motiliti sperma menurun pada 3.5 GHz bagi kedua-dua tempoh dedahan, manakala 24 GHz menunjukkan penurunan daya hidup selepas 1 jam serta penurunan kepekatan dan daya hidup selepas 7 jam. Secara keseluruhan, kedua-dua frekuensi menghasilkan pola kecederaan testis dan tindak balas reproduktif yang berbeza, selari dengan perbezaan pola pemendapan tenaga. Kajian ini menyumbang bukti bersepadu dosimetri-biologi mengenai pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz.

**THE EFFECTS OF 3.5 GHZ AND 24 GHZ RADIOFREQUENCY
ELECTROMAGNETIC FIELD EXPOSURE ON TESTICULAR INJURY AND
SPERM QUALITY IN ADULT MALE SPRAGUE DAWLEY RATS**

ABSTRACT

The rapid development of wireless communication technologies including fifth-generation (5G) technology has increased exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF), yet evidence regarding their effects on the male reproductive system remains limited and inconsistent. This study evaluated the effects of 3.5 GHz and 24 GHz RF-EMF exposure on testicular injury and sperm quality in adult male Sprague Dawley rats through dosimetric simulation and *in vivo* experiment. Simulations were conducted to determine the specific absorption rate (SAR) and power deposition patterns at distances of 5 cm and 10 cm, while SAR at 20 cm was estimated by local extrapolation. The *in vivo* experiment involved 36 rats assigned to sham, 3.5 GHz and 24 GHz groups, with daily exposure durations of 1 hour or 7 hours for 60 days. At 20 cm, the estimated maximum SAR was 0.15 W kg^{-1} for 3.5 GHz and $4.00 \times 10^{-7} \text{ W kg}^{-1}$ for 24 GHz, while the estimated whole-body SAR values were 0.06 W kg^{-1} and $1.80 \times 10^{-7} \text{ W kg}^{-1}$, respectively. Power deposition at 3.5 GHz was relatively deeper, whereas 24 GHz produced more superficial deposition. HSP70 decreased at both frequencies after 1 hour, while after 7 hours HSP90 increased at 3.5 GHz and HSP27 increased at 24 GHz. At 24 GHz, IL-10 decreased at both exposure durations and TNF- α decreased after 7 hours. At 3.5 GHz, *Casp3* increased after 1 hour, while the apoptotic index increased at both exposure durations, indicating a more pronounced testicular apoptotic response. Sperm motility decreased at 3.5 GHz at both exposure durations, whereas 24 GHz reduced sperm viability after 1 hour and reduced sperm concentration and viability after 7 hours. Overall, the two frequencies produced distinct patterns of testicular injury and reproductive responses, consistent with differences in energy deposition patterns. This study provides integrated dosimetric and biological evidence on exposure to 3.5 GHz and 24 GHz RF-EMF.

KANDUNGAN

	Halaman
PENGAKUAN	ii
PENGHARGAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KANDUNGAN	vi
SENARAI JADUAL	xii
SENARAI ILUSTRASI	xiii
SENARAI SINGKATAN	xvii

BAB I	PENDAHULUAN	
1.1	Latar Belakang Kajian	1
1.2	Penyataan Masalah	4
1.3	Objektif	6
	1.3.1 Objektif umum	6
	1.3.2 Objektif spesifik	6
1.4	Hipotesis	7
1.5	Kepentingan Kajian	7
BAB II	KAJIAN KEPUSTAKAAN	
2.1	Sistem Reproduksi Lelaki	8
	2.1.1 Anatomi testis dan komponen utama	9
2.2	Spermatogenesis	10
	2.2.1 Spermatositogenesis	11
	2.2.2 Meiosis	11
	2.2.3 Spermiogenesis	11
2.3	Pengawalan Spermatogenesis Oleh Sel Somatik Dan Hormon Reproduksi	12
	2.3.1 Peranan sel Sertoli dan sel Leydig	12
	2.3.2 Peranan Testosteron, FSH dan LH dalam Spermatogenesis	14
2.4	Kepentingan Suhu Dalam Spermatogenesis	15
	2.4.1 Kawalan suhu oleh skrotum	15

	2.4.2	Kesan haba terhadap sel germinal	16
2.5		Parameter Sperma Dan Potensi Kesuburan Lelaki	18
	2.5.1	Struktur dan fungsi spermatozoa	18
	2.5.2	Kepekatan sperma	20
	2.5.3	Motiliti sperma	20
	2.5.4	Daya hidup sperma	21
	2.5.5	Hubungan parameter sperma dengan potensi kesuburan	22
2.6		Konsep Kecederaan Testis Dan Mekanisme Umum	24
2.7		Teknologi Medan Elektromagnetik Frekuensi Radio (RF-EMF)	28
2.8		Sifat Fizikal Gelombang RF-EMF	28
2.9		Klasifikasi Sinaran Mengion Dan Tidak Mengion	30
2.10		Pendedahan Kronik Terhadap RF-EMF Dalam Persekitaran	31
	2.10.1	Tempoh pendedahan harian dalam kajian RF-EMF	33
2.11		Interaksi Biofizik RF-EMF	35
2.12		Kadar Penyerapan Khusus (SAR)	36
	2.12.1	Definisi dan prinsip SAR	36
	2.12.2	Faktor yang mempengaruhi nilai SAR	37
	2.12.3	Jarak sumber dan pertimbangan pendedahan RF-EMF	39
2.13		Kesan Haba	41
	2.13.1	Mekanisme peningkatan suhu oleh RF-EMF	42
	2.13.2	Kesan terhadap tisu yang sensitif haba	43
2.14		Kesan Bukan Haba	44
	2.14.1	Tekanan oksidatif dan perubahan genetik	44
	2.14.2	Mekanisme molekul tanpa peningkatan suhu	46
2.15		Teknologi 5G Berfrekuensi Tinggi	48
	2.15.1	Evolusi teknologi komunikasi tanpa wayar	48
	2.15.2	Julat frekuensi dan gelombang milimeter dalam 5G	51
2.16		Penembusan Gelombang Dan Kedalaman Dalam Tisu	53
	2.16.1	Pengaruh frekuensi terhadap kedalaman penembusan	53
	2.16.2	Faktor-faktor tisu yang mempengaruhi penyerapan RF-EMF	54
	2.16.3	Simulasi dan pemodelan penyerapan RF-EMF dalam tisu	55

2.16.4	Implikasi biologi terhadap keselamatan dan aplikasi RF-EMF	56
2.17	Kepadatan Antena Dan Pendedahan awam	56
2.18	Kebimbangan Kesihatan Awam Terhadap Pendedahan 5G	58
2.19	Kesan RF-EMF Terhadap Kesihatan Reproduktif Lelaki	61
2.20	Kajian <i>in vitro</i> Dan <i>in vivo</i> Terhadap Kualiti Sperma	63
2.20.1	Kajian <i>in vitro</i>	63
2.20.2	Kajian <i>in vivo</i>	64
2.21	Kecederaan Testis Selepas Pendedahan RF-EMF Dalam Model Haiwan	66
2.22	Tindak Balas Molekul Dan Selular Terhadap RF-EMF	67
2.23	Kesan RF-EMF Terhadap HSP Dalam Testis	69
2.23.1	Peranan HSP di dalam Testis	69
2.23.2	Kesan RF-EMF Terhadap HSP90 dalam Testis	69
2.23.3	Kesan RF-EMF Terhadap HSP70 dalam Testis	70
2.23.4	Kesan RF-EMF Terhadap HSP27 dalam Testis	71
2.24	Kesan RF-EMF Terhadap Sitokin Radang Dalam Testis	72
2.25	Kesan RF-EMF Terhadap Apoptosis Dalam Testis	74
2.26	Rumusan Kajian Lepas Dan Jurang Penyelidikan	76
2.26.1	Kekurangan penyelidikan pada frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G	77
2.26.2	Ketiadaan pendekatan bersepadu antara simulasi dosimetri dan penilaian biologi dalam model haiwan	78
2.26.3	Kekurangan reka bentuk pendedahan yang membolehkan perbandingan bermakna antara jalur pertengahan dan gelombang milimeter	79
2.26.4	Kekurangan penilaian bersepadu terhadap HSP, sitokin radang, apoptosis dan kualiti sperma	80

BAB III

KAEDAH KAJIAN

3.1	Ringkasan Reka Bentuk Kajian Dan Aliran Kerja	82
3.2	Bahan Kimia	84
3.3	Alat Radas	88
3.4	Tetapan Bagi Pendedahan RF-EMF Berfrekuensi Tinggi	89
3.4.1	Antena 3.5 GHz	89
3.4.2	Antena 24 GHz	94
3.5	Simulasi Kadar Penyerapan Khusus (SAR) Dan Taburan Pemendapan Kuasa	97
3.6	Haiwan Kajian	99

3.7	Penempatan Haiwan	100
3.8	Kelulusan Etika Haiwan	100
3.9	Kaedah Pelalian	100
3.10	Reka Bentuk Kajian	101
3.11	Pendedahan Kepada RF-EMF Berfrekuensi Tinggi	101
3.12	Nekropsi	102
3.12.1	Pengumpulan organ	103
3.13	Analisis Protein Kejutan Haba (HSP) Melalui Pemblotan Western	104
3.13.1	Penyediaan reagen	104
3.13.2	Penyediaan homogenat testis tikus	105
3.13.3	Penentuan kepekatan protein tisu homogenat	106
3.13.4	Penyediaan gel poliakrilamida natrium dodesil sulfat (SDS-PAGE)	107
3.13.5	Penyediaan sampel protein	108
3.13.6	Proses elektroforesis	108
3.13.7	Proses pemindahan protein dari gel ke membran	108
3.13.8	Proses pengesanan HSP90 melalui pemblotan Western	109
3.13.9	Proses pengesanan HSP70 melalui pemblotan Western	110
3.13.10	Proses pengesanan HSP27 melalui pemblotan Western	110
3.13.11	Analisis	111
3.14	Analisis Sitokin Radang Melalui <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA)	112
3.15	Analisis Ekspresi Penanda Apoptosis Melalui Ujian TUNEL <i>In Situ</i>	113
3.15.1	Penyediaan slaid testis	113
3.15.2	Pengesanan apoptosis melalui ujian TUNEL	114
3.16	Analisis Ekspresi Penanda Apoptosis Melalui Tindak Balas Rantaian Polimerase Kuantitatif Transkripsi Berbalik (RT-qPCR)	115
3.16.1	Pengekstrakan RNA daripada testis	115
3.16.2	Sintesis cDNA	115
3.16.3	Pelaksanaan RT-qPCR	116
3.16.4	Analisis RT-qPCR	117
3.17	Analisis Parameter Sperma	118
3.17.1	Pengumpulan sperma	118
3.17.2	Kepekatan sperma	118
3.17.3	Motiliti sperma	119
3.17.4	Daya hidup sperma	119

3.18	Analisis Statistik	120
------	--------------------	-----

BAB IV HASIL KAJIAN

4.1	Analisis SAR Dan Taburan Pemendapan Kuasa	121
4.2	Ekspresi Protein Kejutan Haba (HSP)	126
4.2.1	HSP90	126
4.2.2	HSP70	127
4.2.3	HSP27	128
4.3	Aras Sitokin Radang	129
4.4	Analisis Penanda Apoptosis	131
4.4.1	Ekspresi gen apoptosis	131
4.4.2	Indeks Apoptotik	133
4.5	Kualiti Sperma	136
4.5.1	Kepekatan sperma	136
4.5.2	Motiliti sperma	137
4.5.3	Daya hidup sperma	138
4.6	Ringkasan Corak Hasil Kajian	139

BAB V PERBINCANGAN

5.1	Hubungan Dosimetri Dengan Penembusan Tisu	140
5.2	Tindak Balas Protein Kejutan Haba Sebagai Penanda Stres Selular	142
5.3	Modulasi Sitokin Radang dan Mikro-persekitaran Imun Testis	145
5.4	Perbezaan Pola Pengaktifan Apoptosis	147
5.5	Implikasi Fisiologi Terhadap Kualiti Sperma	150
5.6	Sintesis Integratif Kesan 3.5 GHz dan 24 GHz Terhadap Testis dan Kualiti Sperma	153

BAB VI KESIMPULAN

6.1	Rumusan	157
6.2	Limitasi Kajian	160
6.3	Cadangan Kajian Lanjutan	161

RUJUKAN	162
----------------	------------

LAMPIRAN

Lampiran A	Surat Kelulusan Jawatankuasa Etika Penggunaan Haiwan (UKMAEC)	184
Lampiran A.1	Sijil Kelulusan Jawatankuasa Etika Penggunaan Haiwan (UKMAEC)	185
Lampiran B	Nilai SAR maksimum 10 g dan SAR keseluruhan badan bagi pendedahan 3.5 GHz dan 24 GHz pada jarak 5 cm, 10 cm dan anggaran 20 cm.	186
Lampiran C	Gambar Asal Pemblotan Western Tanpa Pemotongan bagi HSP90, HSP70, HSP27 dan β -aktin	187
Lampiran D	Graf Piawai Asai BCA bagi Ekstrak Protein Dengan Menggunakan RIPA dan PBS	189
Lampiran E	Graf piawai ELISA bagi IL-10, IL-6, IL-1 β dan TNF- α	190
Lampiran F	Kecekapan Primer RT-qPCR Bagi Tp53, Bax, Bcl2, Casp3, Actb & Ccna2	192
Lampiran G	Wakilan Puncak Lebur RT-qPCR bagi Tp53, Bax, Bcl2, Casp3, Actb & Ccna2	194
Lampiran H	Imej Kawalan Positif dan Negatif bagi pewarnaan TUNEL	196
Lampiran I	Senarai Penerbitan	197
Lampiran J	Senarai Pembentangan	199

SENARAI JADUAL

No. Jadual		Halaman
Jadual 2.1	Had SAR mengikut <i>International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP)</i> .	37
Jadual 2.2	Jenis teknologi frekuensi radio dan ciri-ciri.	50
Jadual 2.3	Kategori julat frekuensi 5G dan aplikasi.	51
Jadual 3.1	Kepekatan stok, kepekatan campuran KTX dan kepekatan larutan kerja (pencairan 1:4) bagi komponen ketamine, xylazine, tiletamine dan zolazepam yang digunakan dalam kaedah pelalian.	85
Jadual 3.2	Senarai kit komersial yang digunakan untuk pemblotan Western.	85
Jadual 3.3	Senarai antibodi primer yang digunakan untuk pemblotan Western	85
Jadual 3.4	Senarai antibodi sekunder yang digunakan untuk pemblotan Western.	86
Jadual 3.5	Senarai kit komersial yang digunakan untuk ELISA	86
Jadual 3.6	Senarai kit komersial yang digunakan untuk RT-qPCR	86
Jadual 3.7	Senarai gen sasaran dan gen jaga selia yang digunakan untuk RT-qPCR	87
Jadual 3.8	Senarai kit komersial yang digunakan untuk ujian TUNEL	87
Jadual 3.9	Pencairan bersiri Bovine Serum Albumin (BSA).	106
Jadual 3.10	Penyediaan campuran induk bagi sintesis cDNA.	116
Jadual 3.11	Jujukan primer yang digunakan untuk RT-qPCR.	117

SENARAI ILUSTRASI

No. Rajah		Halaman
Rajah 2.1	Anatomi sistem pembiakan lelaki.	8
Rajah 2.2	Ringkasan proses spermatogenesis.	10
Rajah 2.3	Struktur spermatozoa.	19
Rajah 2.4	Gambaran medan elektromagnetik.	30
Rajah 3.1	Carta alir kajian.	83
Rajah 3.2	Model geometri antenna mikrojalur 3.5 GHz yang digunakan dalam simulasi CST Studio Suite 2024.	89
Rajah 3.3	Graf S-parameter bagi antenna mikrojalur 3.5 GHz yang diperoleh daripada simulasi CST Studio Suite 2024.	90
Rajah 3.4	Corak radiasi medan jauh antenna mikrojalur 3.5 GHz berdasarkan simulasi CST Studio Suite 2024.	90
Rajah 3.5	3.5 GHz antenna mikrostrip bahagian depan (Kiri) dan bahagian belakang (Kanan).	91
Rajah 3.6	Penjana isyarat RF dua saluran SynthHD (Windfreak).	92
Rajah 3.7	Perisian SynthHD GUI untuk kawalan penjana isyarat RF SynthHD.	92
Rajah 3.8	Penganalisis spektrum dan penerima pengukuran USB-SA124B (Signal Hound).	93
Rajah 3.9	Perisian Spike untuk verifikasi frekuensi menggunakan penganalisis spektrum Signal Hound SA124B.	93
Rajah 3.10	Model geometri antenna mikrojalur 24 GHz yang digunakan dalam simulasi CST Studio Suite 2024.	94
Rajah 3.11	Graf S-parameter, S11 bagi antenna mikrojalur 24 GHz yang diperoleh daripada simulasi CST Studio Suite 2024.	94
Rajah 3.12	Corak radiasi medan jauh antenna mikrojalur 24 GHz berdasarkan simulasi CST Studio Suite 2024.	95
Rajah 3.13	Peranti pengesanan kehadiran manusia.	96
Rajah 3.14	Modul radar gelombang milimeter 24 GHz HLK-LD2420 untuk pengesanan kehadiran manusia.	96

Rajah 3.15	Verifikasi frekuensi 24 GHz yang dihasilkan oleh peranti sebelum dan selepas pendedahan.	97
Rajah 3.16	Lakaran susunan sangkar tikus semasa dedahan.	102
Rajah 3.17	Susunan lengkap sangkar bersama semua peranti ketika dedahan dilakukan.	103
Rajah 3.18	Susunan lapisan sandwic untuk proses pemindahan protein dari gel ke membran.	109
Rajah 3.19	Perwakilan skematik perubahan morfologi tipikal pada sperma tikus yang tertakluk kepada pembengkakan hipo-osmotik (HOST). Spermatozoa diklasifikasikan sebagai negatif (tidak menunjukkan perubahan bentuk ekor) atau positif (menunjukkan pembengkakan atau lengkungan pada ekor sebagai respons terhadap larutan hipo-osmotik). Peratus spermatozoa HOST-positif digunakan sebagai anggaran daya hidup sperma berdasarkan keutuhan fungsi membran plasma.	120
Rajah 4.1	Perubahan SAR maksimum ($W\ kg^{-1}$) mengikut jarak antenna 5 dan 10 cm pada 3.5 GHz dan 24 GHz. Data diplot dengan menggunakan skala logaritma $\log_{10}$.	123
Rajah 4.2	Perubahan SAR keseluruhan ($W\ kg^{-1}$) mengikut jarak antenna 5 dan 10 cm pada 3.5 GHz dan 24 GHz. Data diplot dengan menggunakan skala logaritma $\log_{10}$.	123
Rajah 4.3	Visualisasi pemendapan kuasa merentasi model voksel tikus. (A) 3.5 GHz pada jarak 5 cm. (B) 3.5 GHz pada jarak 10 cm. (C) 24 GHz pada jarak 5 cm. (D) 24 GHz pada jarak 10 cm.	125
Rajah 4.4	Ekspresi relatif protein HSP90 dalam kumpulan kawalan dan kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n = 6$). Data ditunjukkan sebagai $\min \pm SEM$. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama.	126
Rajah 4.5	Ekspresi relatif protein HSP70 dalam kumpulan kawalan dan kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n = 6$). Data ditunjukkan sebagai $\min \pm SEM$. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama.	127
Rajah 4.6	Ekspresi relatif protein HSP27 dalam kumpulan kawalan dan kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n = 6$). Data ditunjukkan sebagai $\min \pm SEM$. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama.	128

- Rajah 4.7 Aras sitokin radang ternormalisasi dalam testis tikus selepas 60 hari pendedahan RF-EMF pada 3.5 atau 24 GHz selama 1 jam sehari atau 7 jam sehari. Graf bar menunjukkan min $\pm$ SEM (A–C) $n = 5-6$, (D) ($n=4-6$). (A) IL-10: kumpulan 24 GHz lebih rendah berbanding kumpulan kawalan dan kumpulan 3.5 GHz pada 1 jam dan lebih rendah berbanding kumpulan kawalan pada 7 jam. (B) IL-6: tiada perbezaan pada mana-mana tempoh. (C) IL-1 β : tiada perbezaan pada mana-mana tempoh. (D) TNF- α : kumpulan 24 GHz lebih rendah berbanding kumpulan kawalan dan kumpulan 3.5 GHz pada 7 jam. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama. 130
- Rajah 4.8 Perubahan lipatan dalam ekspresi mRNA berkaitan apoptosis dalam testis tikus selepas 60 hari pendedahan RF-EMF pada 3.5 atau 24 GHz selama 1 jam sehari atau 7 jam sehari. Graf bar menunjukkan min $\pm$ SEM ($n = 5-6$). (A) Tp53: kumpulan 3.5 GHz lebih rendah berbanding kumpulan kawalan pada 1 jam dan kumpulan 24 GHz lebih tinggi berbanding kumpulan 3.5 GHz pada 1 jam, tiada perbezaan dikesan pada 7 jam. (B) Bax: tiada perbezaan pada mana-mana tempoh. (C) Bcl2: kumpulan 3.5 GHz lebih tinggi berbanding kumpulan 24 GHz pada 1 jam, tiada perbezaan pada 7 jam. (D) Casp3: kumpulan 3.5 GHz lebih tinggi berbanding kumpulan kawalan pada 1 jam dan lebih tinggi berbanding kumpulan 24 GHz pada kedua-dua tempoh. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama. 132
- Rajah 4.9 Imej wakilan pewarnaan TUNEL pada tisu testis tikus bagi kumpulan kawalan sham, 3.5 GHz dan 24 GHz selepas pendedahan selama 1 jam dan 7 jam. Baris atas menunjukkan kumpulan kawalan sham 1 jam, 3.5 GHz 1 jam dan 24 GHz 1 jam, manakala baris bawah menunjukkan kumpulan kawalan sham 7 jam, 3.5 GHz 7 jam dan 24 GHz 7 jam. Nukleus diwarnakan biru dengan DAPI, manakala sel TUNEL-positif ditunjukkan oleh isyarat fluoresens hijau. Pembesaran imej pada 20 $\times$; bar skala = 200 μ m. 134
- Rajah 4.10 Peratusan indeks apoptotik dalam kumpulan kawalan serta kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n=6$). Data dinyatakan dalam min $\pm$ SEM. * merujuk kepada perbezaan signifikan ($p < 0.05$) berbanding kawalan. # merujuk kepada perbezaan signifikan ($p < 0.05$) berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh sama. 135
- Rajah 4.11 Kepekatan sperma ($\times 10^6$ /mL) dalam kumpulan kawalan serta kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n=6$). Data dinyatakan dalam

	min $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama.	136
Rajah 4.12	Peratusan motiliti sperma (%) dalam kumpulan kawalan serta kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n=6$). Data dinyatakan dalam min $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama	137
Rajah 4.13	Peratusan daya hidup sperma (%) dalam kumpulan kawalan serta kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n=6$). Data dinyatakan dalam min $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama.	138
Rajah 4.14	Peta ringkasan hubungan antara pola pemendapan tenaga, tindak balas protein kejutan haba, modulasi sitokin radang, apoptosis dan kualiti sperma selepas pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz selama 60 hari. Simbol $\uparrow$ menunjukkan peningkatan signifikan, $\downarrow$ menunjukkan penurunan signifikan dan $\leftrightarrow$ menunjukkan tiada perubahan signifikan berbanding kumpulan kawalan sham mengikut tempoh pendedahan yang sama.	139
Rajah 5.1	Sintesis integratif kesan pendedahan 3.5 GHz dan 24 GHz terhadap testis dan kualiti sperma.	153

SENARAI SINGKATAN

2G	Generasi kedua
3G	Generasi ketiga
4G	Generasi keempat
5G	Generasi kelima
Actb	β -aktin
ADAM17	<i>A disintegrin and metalloproteinase 17</i>
APD	Ketumpatan kuasa terserap (<i>absorbed power density</i>)
APS	Amonium persulfat
Bax	<i>Bcl-2-associated X protein</i>
BCA	Asai asid bisinkoninik (<i>bicinchoninic acid assay</i>)
Bcl2	<i>B-cell lymphoma 2</i>
BSA	Albumin serum bovin (<i>bovine serum albumin</i>)
Casp3	<i>Caspase-3</i>
Ccna2	<i>Cyclin A2</i>
cDNA	Asid deoksiribonukleik komplementari (<i>complementary DNA</i>)
CDMA	Capaian berbilang pembahagian kod (<i>code division multiple access</i>)
CHOP	<i>C/EBP homologous protein</i>
COMAR	<i>Committee on Man and Radiation</i>
CST	<i>Computer Simulation Technology</i>
Ct	Kitaran ambang (<i>cycle threshold</i>)
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
DAZL	<i>Deleted in azoospermia-like</i>
DNA	Asid deoksiribonukleik
ECL	<i>Enhanced chemiluminescence</i>

ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EMF	Medan elektromagnetik
EMR	Sinaran elektromagnetik
FITC	<i>Fluorescein isothiocyanate</i>
FR1	<i>Frequency Range 1</i>
FSH	Hormon perangsang folikel (<i>follicle-stimulating hormone</i>)
GHz	<i>Gigahertz</i>
GSM	<i>Global System for Mobile Communications</i>
GRP78	<i>Glucose-regulated protein 78</i>
HOST	Ujian pembengkakan hipo-osmotik (<i>hypo-osmotic swelling test</i>)
HRP	<i>Horseradish peroxidase</i>
HSP	Protein kejutan haba (<i>heat shock protein</i>)
HSP27	Protein kejutan haba 27
HSP70	Protein kejutan haba 70
HSP90	Protein kejutan haba 90
HSPA	<i>High Speed Packet Access</i>
HSPB1	Protein kejutan haba beta-1
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
ICNIRP	<i>International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection</i>
IDT	<i>Integrated DNA Technologies</i>
IEEE	<i>Institute of Electrical and Electronics Engineers</i>
IL-1 β	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin-6
IL-10	Interleukin-10
IM	Tidak motil (<i>immotile</i>)

IoT	Internet pelbagai benda (<i>Internet of Things</i>)
ISED	<i>Innovation, Science and Economic Development Canada</i>
KTX	Ketamine, xylazine, tiletamine dan zolazepam
LH	Hormon peluteinan (<i>luteinizing hormone</i>)
LINE-1	<i>Long interspersed nuclear element-1</i>
LTE	<i>Long-Term Evolution</i>
MCMC	Suruhanjaya Komunikasi dan Multimedia Malaysia
MIMO	Input berbilang, output berbilang (<i>multiple-input multiple-output</i>)
mmWaves	Gelombang milimeter (<i>millimeter waves</i>)
mRNA	Asid ribonukleik pengutus (<i>messenger RNA</i>)
Na ₃ VO ₄	Natrium ortovanadat
NR	<i>New Radio</i>
NP	Motiliti tidak progresif (<i>non-progressive motility</i>)
PBS	Penimbil salin fosfat (<i>phosphate-buffered saline</i>)
P _{acc}	Kuasa diterima pada suapan (<i>accepted power at the feed</i>)
PCR	Tindak balas rantaian polimerase (<i>polymerase chain reaction</i>)
PMSF	<i>Phenylmethylsulfonyl fluoride</i>
PR	Motiliti progresif (<i>progressive motility</i>)
PVDF	<i>Polyvinylidene fluoride</i>
qPCR	Tindak balas rantaian polimerase kuantitatif
RT-qPCR	Tindak balas rantai polimerase kuantitatif transkripsi berbalik
RF	Frekuensi radio
RF-EMF	Medan elektromagnetik frekuensi radio (<i>radiofrequency electromagnetic field</i>)
rDNA	Asid deoksiribonukleik ribosom (<i>ribosomal DNA</i>)
RIPA	<i>Radioimmunoprecipitation assay buffer</i>

RNA	Asid ribonukleik
ROS	Spesies oksigen reaktif (<i>reactive oxygen species</i>)
RSS-102	<i>Radio Standards Specification 102</i>
SAR	Kadar penyerapan khusus (<i>specific absorption rate</i>)
SCHEER	Scientific Committee on Health, Environmental and Emerging Risks
SCOS	Sindrom sel Sertoli sahaja (<i>Sertoli cell-only syndrome</i>)
SDS	Natrium dodesil sulfat
SDS-PAGE	Elektroforesis gel poliakrilamida natrium dodesil sulfat
SEM	Ralat piawai min (<i>standard error of mean</i>)
SKMM	Suruhanjaya Komunikasi dan Multimedia Malaysia
SMS	Khidmat pesanan ringkas (<i>short message service</i>)
TBST	Penimbal Tris-Tween 20
TEMED	<i>Tetramethylethylenediamine</i>
TLR	Reseptor seperti Toll (<i>Toll-like receptor</i>)
TNF- α	Faktor nekrosis tumor α (<i>Tumour necrosis factor-α</i>)
TP53	<i>Tumour protein p53</i>
TUNEL	<i>Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labelling</i>
UKM	Universiti Kebangsaan Malaysia
UKMAEC	Jawatankuasa Etika Haiwan Universiti Kebangsaan Malaysia
UMTS	<i>Universal Mobile Telecommunications System</i>
UTeM	Universiti Teknikal Malaysia Melaka
VGCC	Saluran kalsium berpagar voltan (<i>voltage-gated calcium channel</i>)
WCDMA	<i>Wideband Code Division Multiple Access</i>
WHO	Pertubuhan Kesihatan Sedunia (<i>World Health Organization</i>)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG KAJIAN

Keperluan terhadap sambungan data yang pantas, stabil dan berkapasiti tinggi semakin meningkat selari dengan perkembangan ekonomi digital dan agenda Revolusi Perindustrian Keempat di Malaysia. Dasar Revolusi Perindustrian Keempat Negara menekankan kepentingan infrastruktur digital dalam menyokong transformasi sosioekonomi, penggunaan teknologi pintar dan kesaling-hubungan masyarakat (Unit Perancang Ekonomi 2021). Dalam konteks ini, rangkaian mudah alih generasi kelima (5G) diperkenalkan sebagai teknologi komunikasi tanpa wayar yang menawarkan kadar penghantaran data lebih tinggi, kependaman lebih rendah dan keupayaan menyokong sambungan peranti yang lebih padat berbanding generasi sebelumnya (Holma & Nakamura 2019; Rappaport *et al.* 2017).

Teknologi 5G menggunakan spektrum medan elektromagnetik frekuensi radio (*radiofrequency electromagnetic field*; RF-EMF), termasuk jalur sub-6 GHz dan jalur gelombang milimeter (*millimeter waves*) pada frekuensi yang lebih tinggi. Jalur pertengahan seperti 3.5 GHz lazimnya digunakan untuk mencapai keseimbangan antara liputan dan kapasiti, manakala jalur gelombang milimeter seperti 24 GHz ke atas menawarkan lebar jalur yang lebih besar tetapi mempunyai jarak perambatan yang lebih pendek dan lebih mudah dilemahkan oleh halangan fizikal (Karipidis *et al.* 2021; Rappaport *et al.* 2017; Wang *et al.* 2018).

Oleh itu, penggunaan frekuensi tinggi dalam sistem komunikasi moden sering memerlukan susunan antena yang lebih padat, termasuk antena sel kecil, bagi mengekalkan kualiti liputan dan kapasiti rangkaian. Perkembangan ini meningkatkan kepentingan penilaian saintifik terhadap pendedahan RF-EMF dalam persekitaran harian.

RF-EMF diklasifikasikan sebagai sinaran tidak mengion kerana tenaga fotonnya tidak mencukupi untuk menyebabkan pengionan atom atau molekul. Walau bagaimanapun, tenaga RF-EMF masih boleh diserap oleh tisu biologi dan ditukarkan kepada haba, bergantung kepada frekuensi, intensiti medan, tempoh pendedahan, geometri pendedahan dan sifat dielektrik tisu (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Pada frekuensi yang lebih tinggi khususnya melebihi 6 GHz, pemendapan tenaga menjadi lebih cetek dan lebih tertumpu pada lapisan permukaan. Oleh itu, penilaian kesan biologi RF-EMF perlu mengambil kira dosimetri yang sesuai, termasuk kadar penyerapan khusus bagi frekuensi lebih rendah dan ketumpatan kuasa terserap bagi frekuensi gelombang milimeter (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020).

Testis merupakan organ pembiakan lelaki yang sensitif terhadap perubahan suhu dan tekanan selular. Suhu testis yang lebih rendah berbanding suhu teras badan diperlukan untuk mengekalkan spermatogenesis yang normal. Peningkatan suhu testis atau skrotum boleh mengganggu perkembangan sel germinal, meningkatkan tekanan oksidatif, merangsang apoptosis dan menjejaskan kualiti sperma (Cai, Qin & Peng 2021; Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; Gao *et al.* 2022). Oleh sebab RF-EMF boleh menghasilkan pemanasan setempat bergantung kepada keadaan pendedahan, tisu testis menjadi salah satu organ yang wajar dinilai dalam kajian kesan biologi pendedahan frekuensi radio.

Sumber pendedahan RF-EMF yang lazim dalam kehidupan harian termasuk telefon bimbit, rangkaian Wi-Fi, komputer riba dengan sambungan tanpa wayar, peranti boleh pakai dan aksesori tanpa wayar seperti jam pintar dan fon telinga *Bluetooth*, serta pemancar telekomunikasi. Pendedahan daripada sumber-sumber ini telah dikaji berkaitan potensi perubahan pada kualiti sperma, struktur testis dan fungsi reproduktif lelaki, walaupun dapatan keseluruhan masih tidak konsisten antara kajian (Cordelli *et al.* 2024; Houston *et al.* 2016; Jaffar *et al.* 2019). Kajian terdahulu tentang RF-EMF dan sistem pembiakan lelaki menunjukkan dapatan yang tidak seragam. Beberapa kajian eksperimen melaporkan perubahan pada struktur testis, tekanan oksidatif, apoptosis dan parameter sperma selepas pendedahan RF-EMF tertentu, manakala kajian lain menunjukkan kesan yang lebih kecil atau tidak konsisten. Ulasan sistematik terkini menunjukkan bahawa pendedahan RF-EMF berpotensi mempengaruhi kualiti sperma dan tisu testis tetapi kekuatan bukti masih dipengaruhi oleh perbezaan frekuensi, tempoh pendedahan, intensiti medan, kawalan suhu, dosimetri dan model biologi yang digunakan (Assefa & Abdu 2025; Cordelli *et al.* 2024; Kenny *et al.* 2024). Oleh itu, kesan RF-EMF terhadap fungsi reproduktif lelaki masih memerlukan penilaian yang lebih terkawal dan bersepadu.

Jurang pengetahuan menjadi lebih jelas bagi pendedahan RF-EMF pada frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G, khususnya apabila membandingkan jalur pertengahan seperti 3.5 GHz dengan frekuensi tinggi sekitar 24 GHz. Kedua-dua frekuensi ini mempunyai corak pemendapan tenaga yang berbeza dan perbezaan tersebut berkemungkinan mempengaruhi lokasi serta magnitud tindak balas biologi dalam tisu. Kajian 5G FR1 yang lebih baharu menunjukkan bahawa pendedahan 5.9 GHz boleh dikaitkan dengan tekanan oksidatif, kerosakan histopatologi testis dan peningkatan penanda tekanan retikulum endoplasma dalam model tikus Sprague Dawley (Yilmaz *et al.* 2025). Walau bagaimanapun, bukti khusus yang membandingkan kesan frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz terhadap kecederaan testis masih terhad.

Kedalaman penembusan dan corak pemendapan tenaga RF-EMF dalam tisu biologi sangat dipengaruhi oleh frekuensi. Pada frekuensi yang lebih tinggi khususnya dalam julat gelombang milimeter, penyerapan tenaga menjadi lebih cetek dan lebih

tertumpu pada lapisan permukaan. Manakala, frekuensi jalur pertengahan seperti 3.5 GHz berpotensi menghasilkan pemendapan tenaga yang lebih meluas. Oleh itu, penilaian dosimetri tidak wajar bergantung kepada anggaran umum semata-mata, sebaliknya memerlukan pemodelan komputer yang dapat menggambarkan taburan tenaga dalam model anatomi secara lebih realistik. Dalam kajian ini, pendekatan simulasi berasaskan model voksel digunakan untuk menganggar kadar penyerapan khusus (SAR) dan memvisualisasikan pola pemendapan kuasa bagi frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz. Simulasi dijalankan pada jarak 5 cm dan 10 cm sebagai titik rujukan dosimetri. Bagi jarak 20 cm, iaitu geometri pendedahan sebenar dalam eksperimen haiwan, nilai SAR tidak diperoleh melalui simulasi langsung tetapi dianggarkan melalui ekstrapolasi setempat daripada nilai simulasi 5 cm dan 10 cm. Jarak 20 cm dipilih untuk menyeragamkan geometri pendedahan antara kedua-dua frekuensi dan mengurangkan variasi medan dekat. Walaupun kesan haba merupakan asas utama dalam tafsiran kesan biologi RF-EMF, kemungkinan penglibatan kesan bukan haba masih terus dibincangkan dalam kajian-kajian lepas.

Sehubungan itu, kajian ini dijalankan untuk menilai kesan pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz terhadap kecederaan testis dalam model tikus Sprague Dawley jantan dewasa. Penilaian dilakukan secara bersepadu melalui analisis dosimetri dan parameter biologi yang merangkumi protein kejutan haba, sitokin radang, apoptosis dan kualiti sperma. Pendekatan ini penting bagi memahami sama ada perbezaan frekuensi dan corak pemendapan tenaga RF-EMF boleh menghasilkan tindak balas biologi yang berbeza dalam sistem pembiakan lelaki.

1.2 PENYATAAN MASALAH

Perkembangan teknologi komunikasi 5G telah memperluas penggunaan spektrum RF-EMF termasuk jalur pertengahan sekitar 3.5 GHz dan frekuensi tinggi sekitar 24 GHz ke atas, sekali gus meningkatkan kepentingan penilaian terhadap pendedahan RF-EMF dalam persekitaran. Walaupun RF-EMF diklasifikasikan sebagai sinaran tidak mengion, perbezaan frekuensi boleh menghasilkan corak penyerapan tenaga dan kedalaman penembusan tisu yang berbeza, yang berpotensi mencetuskan kesan biologi yang tidak sama pada sistem reproduktif lelaki.

Kajian terdahulu mengenai RF-EMF dan kesihatan reproduktif lelaki kebanyakannya tertumpu kepada frekuensi di bawah 6 GHz, manakala bukti bagi frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G terutamanya 3.5 GHz dan 24 GHz masih terhad dan tidak konsisten. Tambahan pula, maklumat dosimetri terperinci bagi kedua-dua frekuensi ini, termasuk nilai SAR dan pola pemendapan kuasa dalam model haiwan, masih belum mencukupi untuk menjelaskan hubungan antara pendedahan fizikal dan tindak balas biologi pada testis.

Di samping itu, masih terdapat kekurangan kajian yang menilai kecederaan testis secara bersepadu melalui gabungan penanda tekanan sel, keradangan, apoptosis dan kualiti sperma selepas pendedahan kronik kepada frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G. Kekurangan ini menjadi lebih ketara apabila banyak kajian terdahulu tidak menghubungkan secara langsung antara dosimetri berasaskan model anatomi dan tindak balas biologi yang diperhatikan. Selain itu, pemilihan tempoh dedahan harian 1 jam dan 7 jam dalam kajian ini turut mengambil kira corak penggunaan Internet harian dalam kalangan pengguna di Malaysia. Laporan *Internet Users Survey 2024* oleh Suruhanjaya Komunikasi dan Multimedia Malaysia menunjukkan bahawa sebahagian pengguna Internet menggunakan Internet antara 1 hingga 4 jam sehari, manakala sebahagian lagi berada dalam julat 5 hingga 8 jam sehari (MCMC 2025). Sehubungan itu, tempoh 1 jam dipilih bagi mewakili dedahan harian yang lebih singkat, manakala tempoh 7 jam dipilih bagi mewakili dedahan harian yang lebih berpanjangan dalam konteks penggunaan digital harian. Walau bagaimanapun, kedua-dua tempoh ini tidak dimaksudkan sebagai simulasi langsung kepada satu corak penggunaan peranti yang khusus, sebaliknya digunakan sebagai dua tahap dedahan harian yang berbeza untuk menilai sama ada tindak balas biologi pada testis bergantung kepada tempoh dedahan di bawah geometri eksperimen yang sama. Oleh itu, kajian ini menggabungkan simulasi dosimetri berasaskan model voxel dengan penilaian biologi *in vivo* bagi menilai hubungan antara corak pemendapan tenaga RF-EMF dan tindak balas testis secara lebih bersepadu.

1.3 OBJEKTIF

1.3.1 Objektif umum

Menilai kesan pendedahan RF-EMF berfrekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 60 hari dengan tempoh dedahan harian 1 jam dan 7 jam terhadap kecederaan testis dan kualiti sperma tikus Sprague Dawley jantan dewasa.

1.3.2 Objektif spesifik

- a. Menentukan SAR dan memvisualisasikan pola pemendapan kuasa dalam model voksels tikus bagi pendedahan 3.5 GHz dan 24 GHz pada jarak 5 cm dan 10 cm, serta menganggarkan nilai SAR pada jarak 20 cm melalui ekstrapolasi setempat.
- b. Menentukan kesan pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz dengan tempoh dedahan harian 1 jam dan 7 jam terhadap ekspresi protein HSP90, HSP70 dan HSP27 dalam testis.
- c. Menentukan kesan pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz dengan tempoh dedahan harian 1 jam dan 7 jam terhadap aras IL-10, IL-6, IL-1 β dan TNF- α dalam testis.
- d. Menentukan kesan pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz dengan tempoh dedahan harian 1 jam dan 7 jam terhadap ekspresi gen *Tp53*, *Bax*, *Bcl2* dan *Casp3* serta indeks apoptotik dalam testis.
- e. Menentukan kesan pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz dengan tempoh dedahan harian 1 jam dan 7 jam terhadap kualiti sperma berdasarkan kepekatan, motiliti dan daya hidup sperma.

1.4 HIPOTESIS

- a. Terdapat perbezaan yang signifikan dalam nilai kadar penyerapan khusus (SAR) dan pola pemendapan kuasa antara pendedahan frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz dalam model voksel tikus.
- b. Pendedahan kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 60 hari dengan tempoh dedahan harian 1 jam dan 7 jam menyebabkan peningkatan pada ekspresi protein kejutan haba, aras sitokin radang dan penanda apoptosis dalam testis tikus Sprague Dawley jantan dewasa.
- c. Pendedahan kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 60 hari dengan tempoh dedahan harian 1 jam dan 7 jam menyebabkan penurunan pada kualiti sperma tikus Sprague Dawley jantan dewasa.

1.5 KEPENTINGAN KAJIAN

Kajian ini penting kerana ia menyediakan penilaian bersepadu terhadap kesan pendedahan kepada dua frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G, iaitu 3.5 GHz dan 24 GHz, dengan menggabungkan simulasi dosimetri SAR dan penilaian biologi *in vivo* dalam model tikus. Pendekatan ini membolehkan hubungan antara corak pemendapan tenaga elektromagnet dengan perubahan biologi pada testis dinilai secara lebih sistematik. Selain itu, kajian ini penting kerana ia menilai kecederaan testis melalui beberapa lapisan penanda yang saling melengkapi, iaitu protein kejutan haba, sitokin radang, penanda apoptosis dan kualiti sperma. Dalam konteks ini, kualiti sperma bertindak sebagai takat akhir fungsi utama, manakala perubahan biomolekul dan selular memberikan sokongan mekanistik terhadap gangguan yang berlaku pada testis.

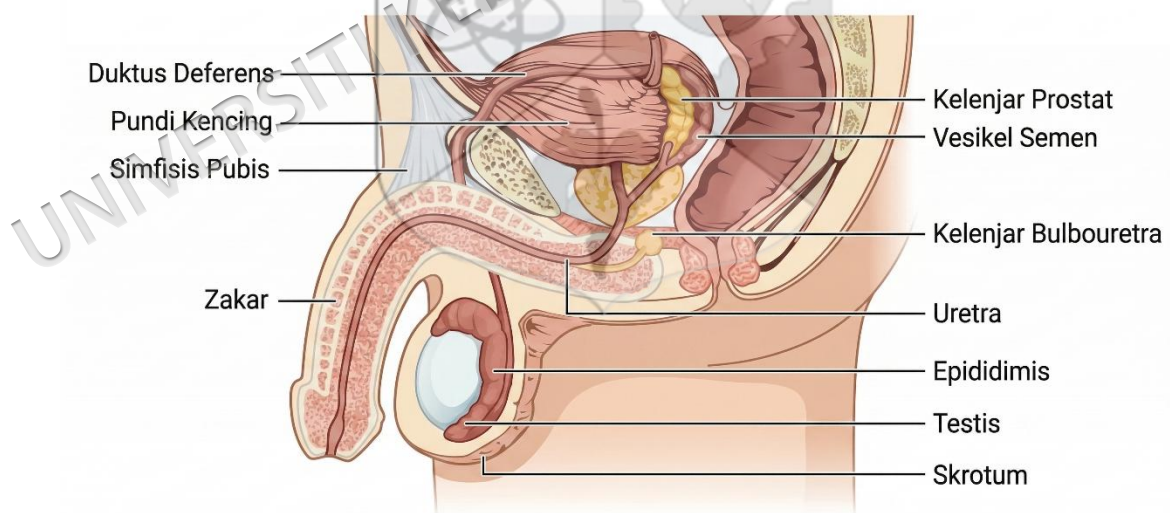
Dapatan kajian ini dijangka dapat menyumbang kepada pengembangan bukti saintifik berkaitan keselamatan biologi dedahan RF-EMF berfrekuensi tinggi, khususnya dalam julat frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G. Penemuan ini juga dapat menyumbang kepada asas bukti bagi penilaian risiko dan penyelidikan lanjut berkaitan keselamatan penggunaan teknologi komunikasi tanpa wayar.

BAB II

KAJIAN KEPUSTAKAAN

2.1 SISTEM REPRODUKTIF LELAKI

Sistem reproduktif lelaki terdiri daripada beberapa organ yang berfungsi secara bersepadu untuk menghasilkan, mematangkan, menyimpan dan mengangkut spermatozoa. Organ utama sistem ini termasuk testis, epididimis, vas deferens, uretra, zakar dan kelenjar aksesori (Rajah 2.1). Keseluruhan sistem ini memainkan peranan penting dalam mengekalkan fungsi reproduktif lelaki dan memastikan proses persenyawaan dapat berlaku dengan berkesan.



Rajah 2.1 Anatomi sistem pembiakan lelaki.

Sumber: Adaptasi daripada Betts *et al.* (2013).

2.1.1 Anatomi testis dan komponen utama

Testis ialah organ reproduktif primer lelaki yang berfungsi dalam penghasilan sperma dan sintesis hormon seks lelaki. Struktur dalaman testis terdiri daripada tubul seminiferus yang menjadi tapak utama spermatogenesis, manakala ruang interstisial di antara tubul ini mengandungi sel Leydig yang berperanan dalam penghasilan testosteron (Obukohwo *et al.* 2022). Organisasi struktur testis yang teratur penting bagi memastikan perkembangan sel germinal berlaku dalam keadaan mikro-persekitaran yang stabil.

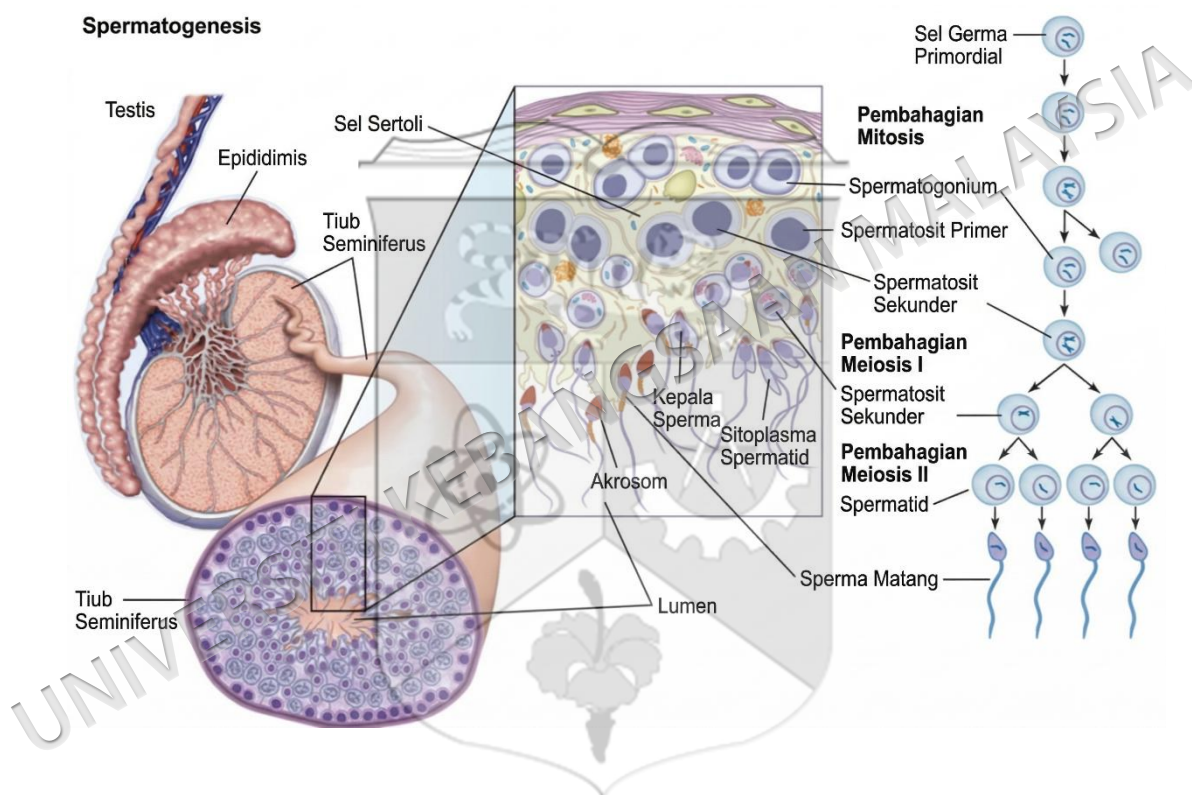
Epididimis ialah saluran berlingkar yang terletak pada bahagian posterior testis dan terbahagi kepada tiga bahagian utama iaitu kaput, korpus dan kauda. Struktur ini berfungsi dalam pematangan, penyimpanan dan pengangkutan sperma. Sperma yang keluar dari testis masih belum matang sepenuhnya dan memperoleh keupayaan fungsi secara beransur-ansur semasa melalui epididimis (Gurung, Tetiskul & Jialal 2023; Huang *et al.* 2022). Oleh itu, epididimis memainkan peranan penting dalam pembentukan sperma yang berupaya bergerak dan berfungsi secara normal.

Vas deferens pula ialah saluran berotot yang mengangkut sperma matang dari epididimis ke saluran ejakulasi. Struktur ini penting dalam penghantaran sperma semasa proses ejakulasi dan merupakan sebahagian daripada laluan utama sistem reproduktif lelaki (Gurung, Tetiskul & Jialal 2023; Huang *et al.* 2022).

Skrotum ialah kantung kulit yang menempatkan testis di luar rongga abdomen. Kedudukan anatomi ini penting untuk mengekalkan suhu testis pada tahap yang lebih rendah daripada suhu teras badan iaitu keadaan yang diperlukan untuk spermatogenesis normal (Kastelic & Rizzoto 2021). Pengawalan suhu testis yang berkesan sangat penting dalam mengekalkan integriti struktur dan fungsi reproduktif lelaki.

2.2 SPERMATOGENESIS

Spermatogenesis ialah proses biologi yang kompleks dan tersusun yang menghasilkan sperma matang daripada sel germinal primitif di dalam tubul seminiferus (Rajah 2.2). Proses ini berlangsung secara berterusan selepas akil baligh dan melibatkan pembahagian sel, pembezaan selular serta perubahan morfologi yang sistematik. Spermatogenesis lazimnya dibahagikan kepada tiga fasa utama, iaitu spermatositogenesis, meiosis dan spermiogenesis.



Rajah 2.2 Ringkasan proses spermatogenesis.

Sumber: Adaptasi daripada Encyclopedia Britannica (2024).

2.2.1 Spermatositogenesis

Spermatositogenesis merupakan fasa awal spermatogenesis yang melibatkan pembaharuan diri dan pembezaan spermatogonia melalui pembahagian mitosis. Dalam fasa ini, sel stem spermatogonia mengekalkan populasi sel germinal asas, manakala sebahagian spermatogonia meneruskan pembezaan untuk menghasilkan spermatosit primer yang akan memasuki fasa meiosis (Diao *et al.* 2022). Proses ini penting kerana ia memastikan bekalan sel germinal yang berterusan bagi menyokong penghasilan spermatozoa sepanjang hayat reproduktif lelaki (Griswold 2016).

2.2.2 Meiosis

Meiosis ialah fasa yang menukarkan spermatosit primer diploid kepada spermatid haploid melalui dua pusingan pembahagian berturutan iaitu meiosis I dan meiosis II. Proses ini mengurangkan bilangan kromosom kepada separuh dan membolehkan pembentukan gamet haploid yang diperlukan untuk persenyawaan (Griswold 2016). Selain itu, rekombinasi meiotik semasa profasa meiosis I menyumbang kepada penggabungan semula alel parental dan kepelbagaian genetik dalam gamet lelaki (Hunter 2015). Hasil akhir fasa ini ialah pembentukan spermatid bulat haploid yang kemudiannya akan mengalami pembezaan morfologi semasa spermiogenesis.

2.2.3 Spermiogenesis

Spermiogenesis ialah fasa akhir spermatogenesis yang melibatkan transformasi spermatid bulat haploid kepada spermatozoa yang mempunyai struktur khusus untuk fungsi pembiakan. Fasa ini merangkumi pepadatan dan pemanjangan nukleus, pembentukan akrosom, pembentukan flagelum, penyusunan semula organel dan penyingkiran sitoplasma berlebihan (Miyata *et al.* 2024). Perubahan ini membolehkan spermatozoa memperoleh struktur kepala dan ekor yang diperlukan untuk pergerakan, interaksi dengan oosit dan proses persenyawaan (Miyata *et al.* 2024). Walau bagaimanapun, spermatozoa yang dilepaskan daripada tubul seminiferus masih memerlukan pematangan lanjut dalam epididimis sebelum mencapai keupayaan fungsi yang optimum.

2.3 PENGAWALAN SPERMATOGENESIS OLEH SEL SOMATIK DAN HORMON REPRODUKTIF

Proses spermatogenesis dikawal oleh interaksi antara sel germinal, sel somatik testis dan hormon reproduktif (Oduwole, Huhtaniemi & Misrahi 2021). Sel Sertoli dan sel Leydig merupakan dua sel somatik utama yang membentuk mikro-persekitaran testis yang sesuai untuk perkembangan sel germinal. Sel Sertoli menyokong perkembangan sel germinal dalam tubul seminiferus, manakala sel Leydig menghasilkan testosteron yang diperlukan untuk mengekalkan spermatogenesis. Pada masa yang sama, paksi hipotalamus-pituitari-gonad mengawal rembesan hormon pelepas gonadotropin, hormon peluteinan (LH), hormon perangsang folikel (FSH) dan testosteron yang bertindak secara bersepadu terhadap testis. Secara keseluruhannya, koordinasi antara sel Sertoli, sel Leydig dan hormon reproduktif penting bagi memastikan perkembangan sel germinal, pematangan spermatid dan penghasilan spermatozoa yang berfungsi secara normal (Esteves & Humaidan 2025; O' Donnell, Smith & Rebourcet 2022; Oduwole, Huhtaniemi & Misrahi 2021).

2.3.1 Peranan sel Sertoli dan sel Leydig

Sel Sertoli terletak di dalam tubul seminiferus dan berfungsi sebagai sel sokongan utama kepada sel germinal. Sel ini menyediakan sokongan struktur, nutrien, faktor pertumbuhan dan isyarat parakrin yang diperlukan untuk perkembangan spermatogonia, spermatosit dan spermatid. Oleh itu, sel Sertoli sering dianggap sebagai pengawal utama spermatogenesis kerana perkembangan sel germinal daripada peringkat awal hingga spermiogenesis bergantung kepada sokongan sel ini (O' Donnell, Smith & Rebourcet 2022).

Selain menyokong perkembangan sel germinal, sel Sertoli juga membentuk penghalang darah testis melalui pertautan khusus antara sel Sertoli yang memisahkan ruang basal daripada ruang adluminal dalam epitelium seminiferus. Penghalang ini penting kerana ia membantu mewujudkan mikro-persekitaran yang sesuai untuk meiosis dan perkembangan sel germinal pasca-meiosis, di samping mengehadkan pendedahan antigen sel germinal kepada sistem imun (Luaces *et al.* 2023; Mruk & Cheng 2015). Walau bagaimanapun, keistimewaan imun testis tidak bergantung kepada

pengasingan fizikal semata-mata kerana ia turut disokong oleh fungsi imunoregulasi sel Sertoli dan interaksi dengan sel imun tempatan dalam testis (Washburn *et al.* 2022).

Sel Sertoli turut menghasilkan protein pengikat androgen dan inhibin B. Protein pengikat androgen membantu mengekalkan kepekatan androgen yang tinggi dalam tubul seminiferus, manakala inhibin B terlibat dalam maklum balas negatif terhadap rembesan hormon perangsang folikel oleh pituitari anterior. Melalui fungsi ini, sel Sertoli bertindak sebagai penghubung antara isyarat hormon dan perkembangan sel germinal dalam tubul seminiferus (Oduwale, Huhtaniemi & Misrahi 2021; Wang *et al.* 2022). Fungsi sel Sertoli juga dikawal oleh interaksi antara hormon perangsang folikel, testosteron dan faktor parakrin tempatan (O' Donnell, Smith & Rebourcet 2022; Oduwale, Huhtaniemi & Misrahi 2021).

Sel Leydig pula terletak di ruang interstisial antara tubul seminiferus dan bertanggungjawab menghasilkan testosteron. Sintesis testosteron dirangsang terutamanya oleh LH melalui pengaktifan reseptor LH pada sel Leydig. Testosteron yang dihasilkan kemudian menyokong spermatogenesis secara tidak langsung melalui tindakannya pada reseptor androgen khususnya pada sel Sertoli, lalu membantu mengekalkan perkembangan sel germinal dan fungsi reproduktif lelaki (Esteves & Humaidan 2025; Oduwale, Huhtaniemi & Misrahi 2021; Zirkin & Papadopoulos 2018).

Interaksi antara sel Sertoli dan sel Leydig amat penting untuk mengekalkan mikro-persekitaran testis yang sesuai bagi perkembangan sel germinal. Sel Leydig menyediakan testosteron yang diperlukan untuk spermatogenesis, manakala sel Sertoli menyokong perkembangan sel germinal, mengekalkan penghalang darah testis, mengawal sebahagian mikro-persekitaran imun dan menyelaraskan respons terhadap isyarat hormon. Oleh itu, gangguan terhadap fungsi salah satu atau kedua-dua jenis sel ini boleh menjejaskan homeostasis hormon, integriti epitelium seminiferus, persekitaran imun testis dan akhirnya kualiti sperma (O' Donnell, Smith & Rebourcet 2022; Oduwale, Huhtaniemi & Misrahi 2021; Washburn *et al.* 2022).

2.3.2 Peranan Testosteron, FSH dan LH dalam Spermatogenesis

Testosteron ialah hormon androgen utama yang diperlukan untuk mengekalkan spermatogenesis. Dalam testis, testosteron menyokong perkembangan sel germinal terutamanya melalui tindakannya pada reseptor androgen dalam sel Sertoli. Sokongan androgen yang mencukupi penting untuk memastikan meiosis, spermiogenesis dan pelepasan spermatid matang berlaku secara normal. Oleh itu, kekurangan sokongan testosteron boleh mengganggu perkembangan sel germinal dan menjejaskan penghasilan spermatozoa yang berfungsi (O' Donnell, Smith & Rebourcet 2022; Oduwale, Huhtaniemi & Misrahi 2021; Zirkin & Papadopoulos 2018).

LH merangsang sel Leydig untuk menghasilkan testosteron, manakala FSH bertindak terutamanya pada sel Sertoli untuk menyokong fungsi spermatogenesis. Tindakan FSH melibatkan pengawalan aktiviti sel Sertoli, sokongan terhadap perkembangan sel germinal, penghasilan protein pengikat androgen dan rembesan inhibin B. Oleh itu, spermatogenesis yang normal bergantung kepada koordinasi antara LH, testosteron dan FSH, serta respons sel Sertoli dan sel Leydig terhadap isyarat hormon tersebut (O' Donnell, Smith & Rebourcet 2022; Oduwale, Huhtaniemi & Misrahi 2021; Santi *et al.* 2020).

Testosteron dan inhibin B turut terlibat dalam mekanisme maklum balas negatif pada paksi hipotalamus-pituitari-testis. Testosteron membantu mengawal rembesan hormon pelepas gonadotropin dan LH, manakala inhibin B yang dihasilkan oleh sel Sertoli memberi maklum balas negatif terhadap rembesan FSH. Hubungan ini penting untuk mengekalkan keseimbangan hormon reproduktif lelaki dan memastikan aktiviti spermatogenesis berlaku dalam julat fisiologi yang sesuai (Jankowska *et al.* 2022; Oduwale, Huhtaniemi & Misrahi 2021; Santi *et al.* 2020).

Secara keseluruhannya, testosteron, FSH dan LH membentuk rangkaian endokrin utama yang mengawal spermatogenesis. LH menyokong penghasilan testosteron oleh sel Leydig, testosteron mengekalkan persekitaran androgenik yang diperlukan dalam tubul seminiferus, manakala FSH mengoptimumkan fungsi sel Sertoli dan sokongan terhadap perkembangan sel germinal. Oleh itu, gangguan terhadap mana-

mana komponen paksi ini boleh menjejaskan homeostasis testis, perkembangan sel germinal dan akhirnya kualiti sperma (Esteves & Humaidan 2025; Oduwale, Huhtaniemi & Misrahi 2021).

2.4 KEPENTINGAN SUHU DALAM SPERMATOGENESIS

2.4.1 Kawalan suhu oleh skrotum

Skrotum memainkan peranan penting dalam mengekalkan suhu testis pada tahap yang lebih rendah daripada suhu teras badan bagi memastikan spermatogenesis berlangsung secara normal. Keperluan suhu yang lebih rendah ini mencerminkan sensitiviti tinggi tisu testis terhadap perubahan suhu khususnya dalam tubul seminiferus yang menjadi tapak utama perkembangan sel germinal (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; Kastelic & Rizzoto 2021). Peningkatan suhu testis melebihi julat fisiologi boleh mengganggu spermatogenesis dan menjejaskan kualiti sperma (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; Pham & Schultz 2021).

Kestabilan suhu testis dikekalkan melalui gabungan beberapa mekanisme anatomi dan fisiologi. Kulit skrotum yang nipis, kurang berbulu dan mempunyai vaskularisasi subkutaneus membantu kehilangan haba melalui sinaran dan penyejatan (Kastelic & Rizzoto 2021). Pleksus pampiniformis yang mengelilingi arteri testis pula berfungsi sebagai sistem pertukaran haba berlawanan arah, lalu membantu menyejukkan darah arteri sebelum memasuki testis (Kastelic & Rizzoto 2021; Kastelic, Rizzoto & Thundathil 2018). Mekanisme tambahan seperti perubahan kedudukan testis melalui otot kremaster dan pengecutan atau pengenduran otot dartos turut membantu mengawal jarak testis daripada tubuh mengikut keadaan suhu persekitaran (Kastelic & Rizzoto 2021; Pham & Schultz 2021).

Gangguan terhadap mekanisme termoregulasi testis boleh menjejaskan fungsi reproduktif lelaki kerana peningkatan suhu testis melebihi julat fisiologi boleh mengganggu spermatogenesis dan kualiti sperma (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015). Varikokel ialah keadaan yang disifatkan sebagai dilatasi abnormal dan berlaku pada pleksus vena pampiniformis dalam kord spermatik (Wadhwa *et al.* 2021). Dilatasi vena dan aliran darah songsang pada varikokel boleh mengganggu mekanisme

pertukaran haba berlawanan arah pada pleksus pampiniformis, lalu meningkatkan suhu skrotum dan testis serta menjejaskan mikro-persekitaran yang diperlukan untuk spermatogenesis normal (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015). Selain hipertermia, varikokel turut dikaitkan dengan peningkatan tekanan oksidatif testis dan seminal yang boleh menyumbang kepada gangguan fungsi spermatogenik dan kerosakan spermatozoa (Russo *et al.* 2024). Kajian sistematik dan meta-analisis dalam model haiwan menunjukkan bahawa varikokel dikaitkan dengan peningkatan tekanan oksidatif serta perubahan pada kiraan, motiliti, daya hidup dan fragmentasi DNA sperma (Russo *et al.* 2024). Oleh itu, varikokel merupakan contoh klinikal yang menunjukkan bahawa gangguan terhadap termoregulasi dan homeostasis mikro-persekitaran testis boleh menjejaskan spermatogenesis dan fungsi reproduktif lelaki (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; Russo *et al.* 2024).

2.4.2 Kesan haba terhadap sel germinal

Sel germinal merupakan antara komponen testis yang paling sensitif terhadap tekanan haba kerana spermatogenesis mamalia memerlukan suhu testis yang lebih rendah daripada suhu teras badan. Peningkatan suhu testis melebihi julat fisiologi boleh mengganggu spermatogenesis dan menghasilkan spermatozoa dengan kualiti yang lebih rendah (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015). Tekanan haba boleh mengganggu keseimbangan redoks testis, meningkatkan pembentukan spesies oksigen reaktif dan menyebabkan kerosakan oksidatif terhadap lipid, protein serta DNA sel germinal (Kaushik, Kaushal & Kalla 2018; Wang *et al.* 2022). Kesan ini boleh menjejaskan kelangsungan hidup sel germinal dan mengganggu perkembangan spermatogenesis pada pelbagai peringkat (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; Kim, Park & Rhee 2013).

Tekanan haba juga boleh mengaktifkan laluan kematian sel khususnya apoptosis apabila kerosakan sel melebihi keupayaan perlindungan dan pembaikan selular. Peningkatan suhu testis telah dikaitkan dengan kehilangan sel germinal, kerosakan epitelium seminiferus dan penurunan fungsi spermatogenesis (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; Kaushik, Kaushal & Kalla 2018). Dalam keadaan tekanan yang lebih kuat atau berpanjangan, gangguan homeostasis sel boleh melibatkan proses

kematian sel lain seperti nekrosis atau autofagi yang tidak terkawal (Kaushik, Kaushal & Kalla 2018; Sharma *et al.* 2023). Oleh itu, kesan haba terhadap sel germinal tidak terhad kepada kerosakan struktur semata-mata, tetapi turut melibatkan perubahan molekul yang menentukan sama ada sel dapat pulih atau menjalani kematian sel terprogram.

Sebagai respons terhadap tekanan haba, sel testis boleh meningkatkan ekspresi protein kejutan haba seperti HSP70 dan HSP90. Protein kejutan haba berfungsi sebagai pengiring molekul yang membantu menstabilkan protein terdenaturasi, mengurangkan salah lipatan protein dan menyokong pemulihan homeostasis selular selepas tekanan haba (Kim, Park & Rhee 2013; Shakeel & Yoon 2023). Walau bagaimanapun, fungsi perlindungan ini mempunyai had kerana tekanan haba yang berlebihan atau berpanjangan boleh mengatasi kapasiti pengiring molekul dan seterusnya mengaktifkan laluan apoptosis dalam sel germinal (Kaushik, Kaushal & Kalla 2018; Kim, Park & Rhee 2013).

Tekanan haba turut mempengaruhi mekanisme kawalan translasi dalam sel germinal. Granul tekanan ialah struktur ribonukleoprotein yang terbentuk sebagai tindak balas terhadap tekanan selular untuk menyimpan sementara mRNA dan menghentikan translasi protein yang tidak diperlukan, sekali gus membantu melindungi RNA daripada kerosakan (Li *et al.* 2025; Schisa 2019). Dalam sel germinal jantan, tekanan haba telah dilaporkan mencetuskan pembentukan granul tekanan yang melibatkan fosforilasi eIF2 α dan perekrutan protein pengikat RNA seperti DAZL yang membantu mengurangkan apoptosis sel germinal semasa tekanan haba (Kim, Cooke & Rhee 2012; Li *et al.* 2025). Walau bagaimanapun, mekanisme perlindungan ini bersifat sementara dan mungkin tidak mencukupi apabila pendedahan haba menjadi terlalu kuat atau berpanjangan (Kim, Park & Rhee 2013; Zhao *et al.* 2024).

Selain sel germinal, tekanan haba juga boleh menjejaskan sel somatik testis seperti sel Sertoli dan sel Leydig. Gangguan terhadap sel Sertoli boleh menjejaskan sokongan metabolik, integriti penghalang darah testis dan mikro-persekitaran yang diperlukan untuk perkembangan sel germinal (Aldahhan & Stanton 2021; Zhao *et al.* 2024). Gangguan terhadap sel Leydig pula boleh mempengaruhi penghasilan

testosteron dan seterusnya menjejaskan sokongan hormon terhadap spermatogenesis (Aldahhan & Stanton 2021). Kesan-kesan ini akhirnya memberi impak secara langsung terhadap sel germinal melalui gangguan proliferasi dan pembezaan spermatogonia, peningkatan kerosakan DNA, pengaktifan apoptosis serta pengurangan bilangan sel germinal yang sedang berkembang, sekali gus menjejaskan proses spermatogenesis dan penghasilan sperma yang normal (Aldahhan & Stanton 2021; Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; Kaushik *et al.* 2019).

2.5 PARAMETER SPERMA DAN POTENSI KESUBURAN LELAKI

2.5.1 Struktur dan fungsi spermatozoa

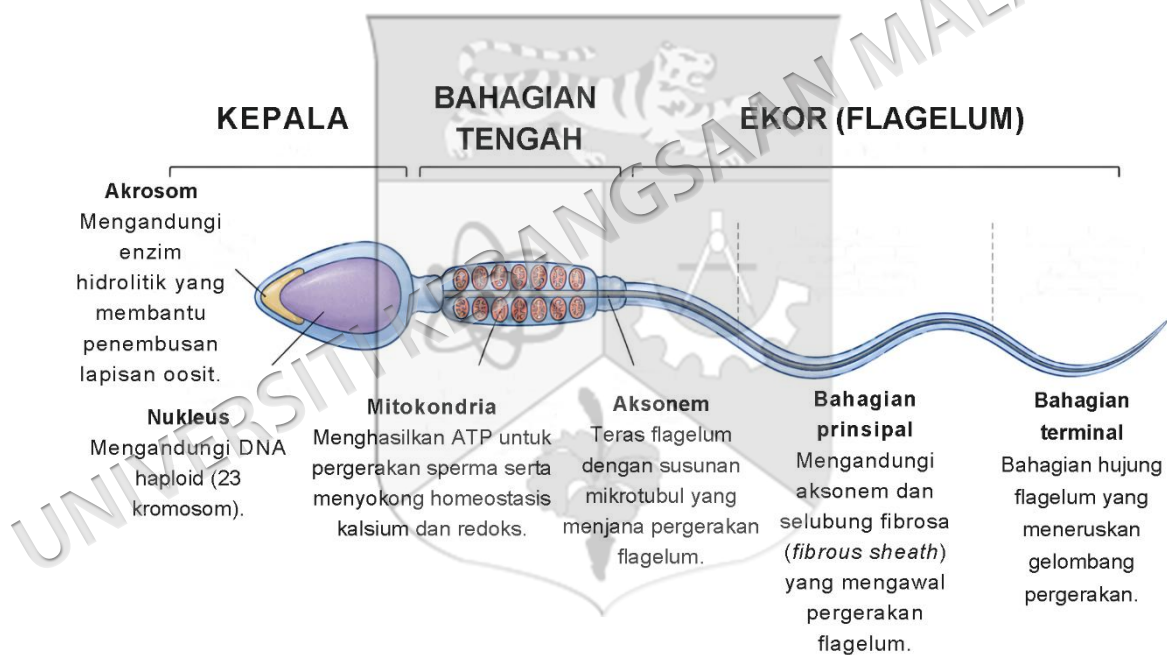
Spermatozoa ialah sel reproduktif jantan yang sangat khusus dan berfungsi untuk membawa bahan genetik paternal kepada oosit semasa persenyawaan. Secara umum, spermatozoa terdiri daripada dua kompartmen utama iaitu kepala dan ekor, manakala ekor boleh dibahagikan kepada bahagian tengah, bahagian prinsipal dan bahagian terminal (Rajah 2.3) (Teves & Roldan 2022). Kepala spermatozoa mengandungi nukleus haploid yang membawa bahan genetik paternal serta akrosom yang mengandungi enzim hidrolitik penting untuk interaksi dengan oosit semasa proses persenyawaan (Teves & Roldan 2022).

Bahagian tengah spermatozoa mengandungi mitokondria yang tersusun mengelilingi struktur aksonem. Mitokondria berperanan dalam penghasilan adenosina trifosfat, kawalan keseimbangan redoks dan pengawalan homeostasis kalsium yang semuanya penting untuk fungsi spermatozoa (Boguenet *et al.* 2021). Oleh itu, gangguan terhadap fungsi mitokondria boleh menjejaskan pergerakan, daya hidup dan keupayaan persenyawaan spermatozoa (Boguenet *et al.* 2021; Vahedi Raad *et al.* 2024).

Ekor spermatozoa atau flagelum bertanggungjawab menghasilkan pergerakan sperma. Struktur teras flagelum ialah aksonem, iaitu susunan sitoskeletal yang menyerupai silia motil dan berfungsi bersama struktur aksesori ekor untuk menghasilkan motiliti, kapasitasi dan pergerakan spermatozoa ke arah oosit (Lehti & Sironen 2017; Teves & Roldan 2022). Oleh itu, kerosakan pada struktur ekor, gangguan

fungsi aksonem atau gangguan bekalan tenaga boleh menyebabkan penurunan motiliti sperma.

Dari sudut fungsi, setiap kompartmen spermatozoa menyumbang kepada parameter sperma yang berbeza. Kerosakan pada kepala boleh melibatkan integriti kromatin atau DNA, kerosakan pada bahagian tengah boleh menjejaskan fungsi mitokondria dan penghasilan tenaga, manakala kerosakan pada ekor boleh mengurangkan keupayaan pergerakan sperma. Walau bagaimanapun, struktur terperinci spermatozoa, fungsi mitokondria dan kerosakan DNA sperma tidak dinilai secara langsung. Oleh itu, perubahan kepekatan, motiliti dan daya hidup sperma ditafsirkan sebagai petunjuk fungsi sperma, bukan sebagai bukti langsung kerosakan struktur ekor, gangguan mitokondria atau kerosakan DNA spermatozoa.



Rajah 2.3 Struktur spermatozoa.

Sumber: Adaptasi daripada (Teves & Roldan 2022).

2.5.2 Kepekatan sperma

Kepekatan sperma merujuk kepada bilangan spermatozoa dalam satu unit isipadu sampel, lazimnya dinyatakan sebagai bilangan sperma per mililiter. Dalam analisis semen manusia, parameter ini merupakan salah satu komponen asas yang digunakan untuk menilai fungsi reproduktif lelaki. Dalam kajian haiwan pula, kepekatan sperma lazimnya merujuk kepada bilangan spermatozoa yang diperoleh daripada suspensi sperma epididimis atau sampel yang diproses mengikut kaedah makmal tertentu. Secara umum, kepekatan sperma boleh dianggap sebagai petunjuk tidak langsung kepada kecekapan spermatogenesis dan status fungsi testis, tetapi tafsirannya perlu dinilai bersama parameter sperma yang lain serta konteks biologi atau klinikal sampel yang dikaji (Björndahl & Kirkman Brown 2022; Boitrelle *et al.* 2021; WHO 2021). Penurunan kepekatan sperma lazimnya dikaitkan dengan gangguan fungsi reproduktif lelaki khususnya apabila berlaku pengurangan penghasilan sel germinal, gangguan pematangan sperma atau perubahan pada salur reproduktif lelaki.

2.5.3 Motiliti sperma

Motiliti sperma merujuk kepada keupayaan spermatozoa untuk bergerak secara aktif dan terarah. Keupayaan ini adalah penting untuk mencapai oosit dan melengkapkan proses persenyawaan (Evgeni & Kothari 2024). Motiliti sperma dipengaruhi oleh integriti struktur flagelum, fungsi mitokondria, homeostasis ion, serta kestabilan membran plasma. Oleh itu, gangguan pada mana-mana komponen ini boleh menjejaskan keupayaan pergerakan sperma dan seterusnya menurunkan fungsi reproduktif lelaki.

Pelbagai faktor boleh menjejaskan motiliti sperma, termasuk jangkitan dan keradangan dalam sistem reproduktif lelaki, tekanan oksidatif, suhu persekitaran yang tinggi, serta faktor gaya hidup dan persekitaran seperti merokok, obesiti, dan pendedahan kepada bahan toksik (Alamo *et al.* 2019; Alamo *et al.* 2024; Fatah, Palani & Aziz 2023; Ghafarizadeh *et al.* 2021; Reiner-Benaim *et al.* 2024). Tekanan oksidatif khususnya boleh menyebabkan kerosakan pada membran, protein dan DNA sperma, lalu mengurangkan keupayaan pergerakan progresif. Di samping itu, kawalan motiliti juga bergantung kepada mekanisme fisiologi dan molekul seperti ion kalsium,

bikarbonat dan pH selular. Manakala mutasi genetik yang melibatkan struktur flagelum dan penghasilan tenaga boleh memberi kesan yang ketara terhadap motiliti sperma (Chakraborty & Saha 2022).

Dalam konteks klinikal, motiliti sperma merupakan salah satu parameter penting dalam penilaian kesuburan lelaki kerana penurunan motiliti sering dikaitkan dengan pengurangan kadar persenyawaan. Beberapa pendekatan seperti pengubahsuaian gaya hidup, intervensi farmakologi dan penggunaan antioksidan telah dilaporkan dapat membantu memperbaiki motiliti sperma (Campbell *et al.* 2021). Oleh itu, motiliti sperma boleh dianggap sebagai penunjuk fungsi sperma yang sensitif terhadap pelbagai gangguan fisiologi dan persekitaran.

2.5.4 Daya hidup sperma

Daya hidup sperma merujuk kepada peratusan spermatozoa hidup dalam sesuatu sampel. Parameter ini mencerminkan integriti membran plasma spermatozoa. Daya hidup boleh dinilai melalui kaedah pengecualian pewarna atau melalui ujian pembengkakan hipo-osmotik (HOST) yang menilai keupayaan membran plasma spermatozoa untuk bertindak balas terhadap persekitaran hipo-osmotik. Dalam analisis semen, penilaian daya hidup amat berguna apabila motiliti sperma rendah kerana ia dapat membantu membezakan antara spermatozoa yang mati dengan spermatozoa yang masih hidup tetapi tidak bergerak (Agarwal *et al.* 2022; Mortimer 2020; World Health Organization 2021).

Daya hidup sperma berkait rapat dengan kestabilan membran, fungsi metabolik dan keseimbangan redoks dalam persekitaran semen. Tekanan oksidatif boleh merosakkan lipid membran, protein dan DNA spermatozoa, lalu menjejaskan kelangsungan hidup serta fungsi sperma (Rasmussen *et al.* 2024). Oleh itu, daya hidup yang rendah boleh mencerminkan gangguan pada integriti membran dan persekitaran selular yang tidak stabil terutamanya apabila disertai penurunan motiliti atau peningkatan kerosakan DNA sperma (Agarwal *et al.* 2022; Rasmussen *et al.* 2024).

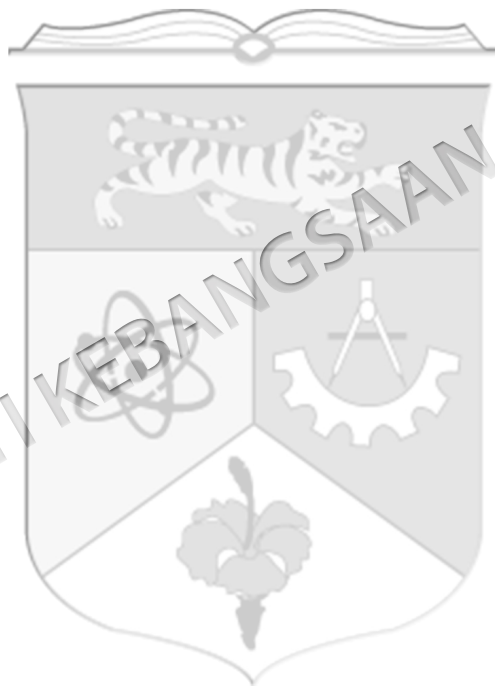
Faktor persekitaran dan prosedur makmal juga boleh mempengaruhi daya hidup sperma. Perubahan suhu, ketidakseimbangan pH, tekanan osmotik, tekanan oksidatif dan pemprosesan sampel boleh menjejaskan integriti membran spermatozoa. Proses pengkrioawetan boleh menyebabkan kerosakan struktur dan fungsi spermatozoa melalui tekanan sejuk, tekanan osmotik dan tekanan oksidatif, lalu mengurangkan motiliti dan daya hidup selepas nyahbeku (Tamburrino *et al.* 2023; Yurchuk *et al.* 2021). Secara keseluruhannya, daya hidup sperma ialah parameter penting dalam penilaian fungsi reproduktif lelaki kerana ia menggambarkan kelangsungan hidup sel dan integriti membran spermatozoa.

2.5.5 Hubungan parameter sperma dengan potensi kesuburan

Parameter sperma tidak boleh ditafsir secara berasingan kerana setiap parameter hanya mewakili sebahagian daripada proses reproduktif lelaki. Kepekatan sperma memberi gambaran tentang jumlah spermatozoa yang tersedia, manakala motiliti dan daya hidup sperma menentukan sama ada spermatozoa tersebut masih berfungsi dan berpotensi terlibat dalam proses persenyawaan. Oleh itu, penurunan satu parameter tidak semestinya membawa maksud yang sama dengan penurunan parameter lain, dan tafsiran biologi hanya menjadi lebih bermakna apabila beberapa parameter dinilai secara serentak (Björndahl & Kirkman Brown 2022; World Health Organization 2021).

Sebagai contoh, kepekatan sperma yang normal tidak semestinya menunjukkan fungsi reproduktif yang baik sekiranya motiliti atau daya hidup sperma menurun. Sebaliknya, penurunan kepekatan sperma boleh memberi kesan yang berbeza bergantung kepada sama ada spermatozoa yang masih wujud mempunyai motiliti dan daya hidup yang mencukupi. Oleh itu, gabungan kepekatan, motiliti dan daya hidup sperma memberikan tafsiran yang lebih menyeluruh berbanding penilaian satu parameter sahaja, khususnya dalam mengenal pasti sama ada gangguan berlaku pada penghasilan sperma, pematangan sperma atau fungsi spermatozoa selepas meninggalkan testis (Chung *et al.* 2024; Lamb & Marinaro 2023; World Health Organization 2021).

Walaupun analisis parameter sperma digunakan secara meluas dalam penilaian kesuburan lelaki, tiada satu parameter tunggal yang dapat meramalkan kesuburan secara mutlak. Nilai parameter sperma boleh bertindih antara individu subur dan tidak subur, dan kesuburan sebenar turut dipengaruhi oleh faktor pasangan, fungsi salur reproduktif wanita, interaksi gamet dan keadaan biologi lain. Oleh itu, dalam kajian eksperimen, perubahan pada parameter sperma lebih sesuai ditafsir sebagai petunjuk gangguan fungsi reproduktif lelaki, bukan sebagai bukti langsung ketidaksuburan. Pendekatan ini penting supaya kesan sesuatu pendedahan terhadap sperma dapat dihuraikan secara berhati-hati dan tidak melebihi skop data yang diukur.



2.6 KONSEP KECEDERAAN TESTIS DAN MEKANISME UMUM

Kecederaan testis merujuk kepada gangguan struktur dan fungsi testis yang boleh menjejaskan spermatogenesis, homeostasis hormon, mikrop persekitaran imun dan kualiti sperma. Testis mudah terjejas oleh faktor fizikal, kimia dan biologi kerana spermatogenesis memerlukan kawalan suhu yang sesuai, fungsi sel Sertoli dan sel Leydig yang normal, integriti epitelium seminiferus, keseimbangan redoks yang stabil dan pengawalan imun yang tersusun. Faktor yang sering dikaitkan dengan gangguan fungsi testis termasuk haba, sinaran, iskemia-reperfusi, kilasan (*torsion*) testis, varikokel, bahan toksik, jangkitan, keradangan, gangguan hormon, gaya hidup dan faktor pemakanan (Chi *et al.* 2022; Chiba *et al.* 2016; Krzastek *et al.* 2020; Mohamed *et al.* 2020; Rotimi & Singh 2024). Secara umum, kecederaan testis melibatkan beberapa mekanisme patofisiologi utama seperti tekanan oksidatif, keradangan, gangguan fungsi sel somatik testis, ketidakseimbangan hormon, kerosakan penghalang darah-testis dan pengaktifan kematian sel germinal (Chi *et al.* 2022; Minas *et al.* 2023; Mohamed *et al.* 2020; Xu *et al.* 2024).

Tekanan oksidatif merupakan antara mekanisme yang paling kerap dikaitkan dengan kecederaan testis dan gangguan kualiti sperma. Dalam keadaan fisiologi, spesies oksigen reaktif diperlukan pada tahap terkawal untuk proses reproduktif tertentu termasuk kapasitasi, hiperaktivasi, tindak balas akrosom dan interaksi sperma-oosit (Symeonidis *et al.* 2021). Walau bagaimanapun, penghasilan spesies oksigen reaktif yang berlebihan boleh mengatasi keupayaan sistem antioksidan dan menyebabkan kerosakan selular. Kerosakan oksidatif boleh menjejaskan lipid membran, protein dan DNA, lalu mengganggu fungsi sel germinal, fungsi sel somatik testis dan kestabilan spermatogenesis (Chi *et al.* 2022; Mohamed *et al.* 2020; Symeonidis *et al.* 2021). Dalam sperma, tekanan oksidatif boleh merosakkan integriti membran plasma, mengganggu fungsi mitokondria, mengurangkan motiliti dan meningkatkan kerosakan bahan genetik sperma (Sadeghi *et al.* 2023; Symeonidis *et al.* 2021). Oleh itu, keseimbangan antara penghasilan spesies oksigen reaktif dan sistem pertahanan antioksidan adalah penting untuk mengekalkan homeostasis testis, spermatogenesis dan kualiti sperma (Sadeghi *et al.* 2023; Symeonidis *et al.* 2021).

Kecederaan testis akibat iskemia-reperfusi dan kilasan testis menunjukkan hubungan rapat antara tekanan oksidatif, keradangan dan kematian sel germinal. Dalam model iskemia-reperfusi testis, kecederaan tisu dikaitkan dengan peningkatan malondialdehid, penurunan glutathione terturun, penurunan aktiviti superoksida dismutase, peningkatan sitokin pro-radang dan penurunan testosteron (Mohamed *et al.* 2020). Dalam model kilasan testis, kecederaan testis turut melibatkan tekanan oksidatif, tekanan nitrosatif, keradangan, apoptosis, nekrosis sel germinal, gangguan spermatogenesis dan penurunan fungsi steroidogenik (Chi *et al.* 2022; Minas *et al.* 2023). Dapatan ini menunjukkan bahawa kecederaan testis lazimnya tidak berlaku melalui satu laluan tunggal, sebaliknya melibatkan interaksi antara tekanan redoks, tindak balas radang, gangguan hormon dan kehilangan sel germinal.

Keradangan merupakan komponen penting dalam kecederaan testis kerana testis mempunyai mikro-persekitaran imun yang perlu dikawal dengan teliti untuk membenarkan spermatogenesis berlaku tanpa mencetuskan tindak balas autoimun terhadap antigen sel germinal. Keradangan testis boleh menjejaskan penghasilan sperma, menurunkan kuantiti dan kualiti sperma, serta melibatkan interaksi antara sel imun, sel bukan imun dan sitokin (Xu *et al.* 2024). Dalam orkitis, pengaktifan makrofaj, sel T, sel dendritik dan sel mast boleh meningkatkan perantara pro-radang seperti TNF- α , IL-1 β dan IL-6, di samping mengubah tindak balas imun tempatan (Xu *et al.* 2024). Sel Sertoli dan sel Leydig juga terlibat dalam tindak balas keradangan kerana sel ini boleh menghasilkan perantara imun, mengekalkan penghalang darah-testis dan menyokong penghasilan testosteron yang diperlukan untuk spermatogenesis (Xu *et al.* 2024). Oleh itu, gangguan keradangan dalam testis boleh menjejaskan spermatogenesis melalui kerosakan penghalang darah-testis, gangguan sokongan sel Sertoli, apoptosis sel Leydig, penurunan testosteron dan perubahan sitokin setempat (Xu *et al.* 2024).

Kecederaan testis turut boleh melibatkan gangguan struktur pada tubul seminiferus, epitelium germinal, sel Sertoli, sel Leydig dan ruang interstisial. Perubahan struktur seperti pengecilan diameter tubul seminiferus, perubahan ruang intertubular, gangguan fungsi sel Leydig dan perubahan nisbah hormon reproduktif telah diperhatikan dalam keadaan gangguan struktur testis seperti sindrom sel Sertoli sahaja (*Sertoli Cell-Only Syndrome*; SCOS) dan disgenesis testis (Adamczewska *et al.* 2020).

Gangguan terhadap sel Sertoli boleh menjejaskan sokongan metabolik, pembentukan penghalang darah-testis dan perkembangan sel germinal. Gangguan terhadap sel Leydig pula boleh menjejaskan penghasilan testosteron, lalu mengurangkan sokongan hormon terhadap spermatogenesis. Oleh itu, perubahan struktur testis perlu ditafsir bersama perubahan hormon, keradangan, tekanan oksidatif dan kualiti sperma kerana semua komponen ini saling berkait dalam menentukan fungsi reproduktif lelaki.

Faktor klinikal dan persekitaran turut memberi kesan penting terhadap kesihatan testis. Varikokel boleh dikaitkan dengan peningkatan suhu testis, tekanan vena, hipoksia, tekanan oksidatif, gangguan hormon dan kemerosotan parameter semen (Chiba *et al.* 2016). Kecederaan fizikal, haba, iskemia, kilasan testis, varikokel dan trauma dalam model haiwan juga lazimnya dikaitkan dengan tekanan oksidatif, apoptosis, perubahan histopatologi, perubahan parameter sperma dan gangguan hormon (Ebrahimi *et al.* 2023). Selain itu, pendedahan kepada bahan pencemar dan toksikan persekitaran boleh mempengaruhi potensi kesuburan lelaki melalui perubahan hormon, tekanan oksidatif, keradangan dan gangguan spermatogenesis (Krzastek *et al.* 2020). Faktor gaya hidup seperti corak pemakanan, obesiti, merokok, alkohol, tekanan psikologi, aktiviti fizikal yang tidak mencukupi dan senaman berlebihan turut boleh mempengaruhi fungsi reproduktif lelaki melalui mekanisme metabolik, hormon dan redoks (Rotimi & Singh 2024). Bahan tambahan makanan tertentu seperti monosodium glutamate juga telah dikaitkan dengan disfungsi reproduktif lelaki melalui kerosakan oksidatif, perubahan histologi testis, ketidakseimbangan hormon dan penurunan kualiti sperma (Kayode *et al.* 2020).

Dalam konteks RF-EMF, testis sering dianggap sebagai organ sasaran yang berpotensi terjejas kerana spermatogenesis memerlukan mikro-persekitaran yang stabil, kawalan suhu yang baik, keseimbangan redoks yang terkawal, pengawalan imun yang sesuai serta fungsi normal sel Sertoli dan sel Leydig. Ulasan sistematik dan meta-analisis eksperimen menunjukkan bahawa pendedahan RF-EMF berpotensi dikaitkan dengan perubahan pada kualiti sperma, histomorfometri testis, histologi testis, kematian sel testis, penghasilan sperma testis dan paras testosteron (Cordelli *et al.* 2024). Ulasan sistematik kajian haiwan berkaitan radiasi telefon bimbit juga melaporkan perubahan histopatologi testis dan penurunan beberapa parameter sperma, tetapi dapatan tersebut

perlu ditafsir secara berhati-hati kerana perbezaan spesies, frekuensi, tempoh pendedahan, SAR dan kaedah penilaian tisu (Assefa & Abdu 2025).

Secara keseluruhannya, kecederaan testis boleh difahami sebagai keadaan multi-faktorial yang melibatkan interaksi antara tekanan oksidatif, keradangan, gangguan imun, gangguan hormon, perubahan struktur testis, kematian sel germinal dan kemerosotan kualiti sperma. Dalam kajian RF-EMF, tafsiran terhadap kecederaan testis perlu dibuat secara bersepadu dengan mengambil kira frekuensi, tempoh pendedahan, kadar penyerapan khusus, kawalan suhu, model haiwan dan titik akhir biologi yang digunakan (Assefa & Abdu 2025; Cordelli *et al.* 2024). Pendekatan ini penting supaya perubahan biologi yang diperhatikan tidak ditafsir secara terasing, sebaliknya dilihat dalam kerangka mekanisme umum kecederaan testis yang melibatkan pemendapan tenaga, tekanan redoks, tindak balas imun, apoptosis dan gangguan fungsi spermatogenesis.



2.7 TEKNOLOGI MEDAN ELEKTROMAGNETIK FREKUENSI RADIO (RF-EMF)

RF-EMF merujuk kepada bahagian spektrum elektromagnet yang digunakan secara meluas dalam penghantaran maklumat tanpa wayar. Gelombang frekuensi radio (*radiofrequency*; RF) memainkan peranan penting dalam pelbagai aplikasi moden, khususnya dalam telekomunikasi, termasuk sistem komunikasi mudah alih, Wi-Fi, siaran radio dan televisyen, serta komunikasi satelit (Ray 2024). Selain itu, RF turut digunakan dalam bidang perubatan, industri dan pertanian, termasuk bagi tujuan pengimejan, pemanasan bahan dan pemprosesan produk tertentu (Gaponenkov *et al.* 2019; Mayuri, Vijayalakshmi & Sindhubala 2015). Rangkaian aplikasi ini menunjukkan bahawa RF-EMF telah menjadi sebahagian daripada persekitaran teknologi moden.

Dari sudut fizik, gelombang RF ialah gelombang elektromagnet yang membawa tenaga dalam julat frekuensi tertentu dan tergolong dalam kategori sinaran tidak mengion kerana tidak mempunyai tenaga yang mencukupi untuk menyebabkan pengionan atom atau molekul. Walaupun begitu, RF-EMF masih boleh berinteraksi dengan tisu biologi melalui penyerapan tenaga elektromagnet, dan magnitud interaksi ini bergantung kepada frekuensi, intensiti medan, tempoh pendedahan serta sifat dielektrik tisu yang terlibat.

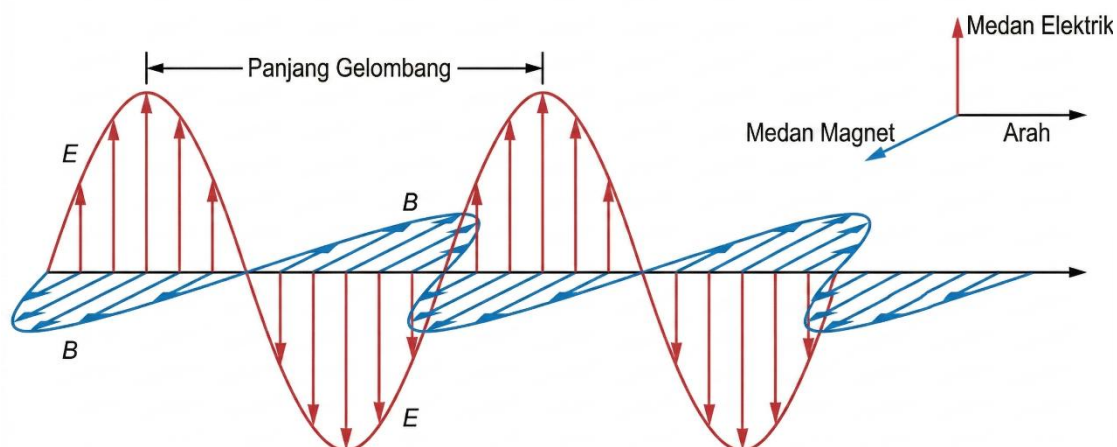
2.8 SIFAT FIZIKAL GELOMBANG RF-EMF

Medan elektromagnetik (*electromagnetic field*; EMF) merujuk kepada medan fizikal yang terhasil daripada pergerakan zarah bercas elektrik dan terdiri daripada dua komponen utama, iaitu medan elektrik dan medan magnet yang saling berkaitan (Rajah 2.4). Medan elektrik dihasilkan oleh voltan, manakala medan magnet dihasilkan oleh arus elektrik yang mengalir melalui konduktor. Kedua-dua medan ini bergerak bersama dalam bentuk gelombang elektromagnet yang merangkumi spektrum frekuensi yang sangat luas bermula daripada frekuensi sangat rendah hingga frekuensi yang sangat tinggi.

Gelombang elektromagnetik berbeza daripada gelombang mekanikal kerana ia tidak memerlukan medium untuk merambat. Oleh itu, gelombang ini boleh bergerak melalui udara, bahan pepejal dan ruang vakum (Foster & Tell 2021). Sifat ini membolehkan gelombang elektromagnetik digunakan secara meluas dalam pelbagai sistem komunikasi moden, termasuk penghantaran maklumat tanpa wayar.

Dalam persekitaran moden, sumber medan elektromagnetik merangkumi peralatan elektrik, sistem komunikasi dan juga fenomena semula jadi seperti kilat. Penggunaan meluas telefon bimbit, penghala Wi-Fi dan peranti elektronik lain menyebabkan pendedahan kepada EMF menjadi sebahagian daripada kehidupan harian (Shekoohi-Shooli *et al.* 2016). Oleh itu, pemahaman tentang sifat fizikal gelombang elektromagnetik adalah penting bagi menjelaskan bagaimana gelombang ini merambat, berinteraksi dengan bahan dan akhirnya mempengaruhi sistem biologi.

Secara umum, ciri penting gelombang elektromagnetik termasuk frekuensi, panjang gelombang dan tenaga. Frekuensi dan panjang gelombang mempunyai hubungan songsang, iaitu peningkatan frekuensi menyebabkan pengurangan panjang gelombang. Tenaga gelombang pula meningkat apabila frekuensinya meningkat. Hubungan ini penting kerana ia mempengaruhi keupayaan gelombang untuk merambat, menembusi bahan tertentu, dan diserap oleh tisu biologi. Justeru, variasi sifat fizikal ini menjadi asas kepada perbezaan interaksi biologi antara pelbagai julat frekuensi elektromagnetik.



Rajah 2.4 Gambaran medan elektromagnetik.

Sumber: Adaptasi daripada Ling, Sanny dan Moebs (2016)

2.9 KLASIFIKASI SINARAN MENGION DAN TIDAK MENGION

Sinaran elektromagnetik boleh diklasifikasikan kepada dua kategori utama berdasarkan tahap tenaganya iaitu sinaran mengion dan sinaran tidak mengion. Perbezaan utama antara kedua-dua kategori ini terletak pada keupayaan gelombang tersebut untuk menanggalkan elektron daripada atom atau molekul dan seterusnya menghasilkan ion (Schmid & Benke 2020).

Sinaran mengion mempunyai tenaga yang cukup tinggi untuk menyebabkan pengionan. Sinaran ini merangkumi sinaran alfa (α), beta (β), gamma (γ) dan sinar-X. Ia boleh berasal daripada sumber semula jadi seperti sinaran kosmik dan gas radon, atau daripada sumber buatan seperti mesin sinar-X dan reaktor nuklear (Intakhab & Maqbool 2023; Turick, Knox & Kuhne 2012). Dalam bidang perubatan, sinaran mengion digunakan secara meluas dalam diagnostik dan rawatan, termasuk radioterapi dan perubatan nuklear (Danyo, Ivantsova & Selezneva 2024). Walau bagaimanapun, pendedahan kepada sinaran mengion boleh menyebabkan kerosakan DNA, mutasi genetik dan peningkatan risiko kanser (Grant & Hoel 2024; Samarth *et al.* 2019).

Sebaliknya, sinaran tidak mengion mempunyai tenaga yang lebih rendah dan tidak mencukupi untuk menyebabkan pengionan atom. Kategori ini merangkumi gelombang radio (RF), gelombang mikro, inframerah (IR), cahaya tampak dan sebahagian sinaran ultraungu (UV). Sinaran tidak mengion boleh berasal daripada

sumber semula jadi seperti cahaya matahari, serta sumber buatan seperti telefon bimbit, ketuhar gelombang mikro dan peralatan elektrik (Omer 2021; Simson, Vashistha & Singh Sethi 2024). Walaupun tidak menyebabkan pengionan secara langsung, sinaran tidak mengion masih boleh berinteraksi dengan tisu biologi melalui mekanisme lain seperti pemanasan tisu dan perubahan tindak balas selular tertentu.

Gelombang RF-EMF tergolong dalam kategori sinaran tidak mengion. Oleh itu, kesan biologinya tidak berlaku melalui pemecahan langsung ikatan kimia seperti yang dikaitkan dengan sinaran mengion. Namun, kesannya lebih berkait dengan penyerapan tenaga elektromagnetik oleh tisu yang boleh mencetuskan kesan haba atau perubahan biologi lain bergantung kepada frekuensi, intensiti dan tempoh pendedahan. Pemahaman terhadap klasifikasi ini penting dalam menilai risiko pendedahan serta dalam menentukan pendekatan perlindungan yang sesuai terhadap pelbagai jenis sinaran elektromagnetik.

2.10 PENDEDAHAN KRONIK TERHADAP RF-EMF DALAM PERSEKITARAN

Peningkatan penggunaan teknologi komunikasi tanpa wayar menyebabkan pendedahan terhadap RF-EMF semakin meluas dalam persekitaran moden. RF-EMF lazim ditemui melalui telefon bimbit, pemancar Wi-Fi, stesen pangkalan, sistem komunikasi tanpa wayar domestik dan pelbagai peranti elektronik yang digunakan secara berterusan dalam kehidupan harian (Bortkiewicz 2019; ICNIRP 2020). Perkembangan teknologi telekomunikasi juga meningkatkan kepelbagaian corak pendedahan dari segi frekuensi, tempoh, kuasa pancaran, jarak sumber daripada tubuh dan corak penggunaan peranti (Karipidis *et al.* 2021; Ramirez-Vazquez *et al.* 2024). Oleh itu, pendedahan kronik terhadap RF-EMF perlu dinilai bukan sahaja berdasarkan kewujudan sumber pancaran, tetapi juga berdasarkan ciri pendedahan sebenar dalam persekitaran harian.

Secara umum, kesan biologi RF-EMF boleh dibincangkan melalui mekanisme haba dan kemungkinan mekanisme bukan haba. Kesan haba berlaku apabila tenaga RF diserap oleh tisu biologi dan ditukarkan kepada haba, lalu menghasilkan peningkatan suhu setempat atau sistemik pada tahap pendedahan yang mencukupi (ICNIRP 2020). Pada frekuensi melebihi 6 GHz, pemendapan tenaga menjadi lebih cetek dan lebih

tertumpu pada lapisan permukaan, menyebabkan penilaian pendedahan setempat memerlukan metrik dosimetri yang sesuai seperti ketumpatan kuasa terserap (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Sebaliknya, kesan bukan haba merujuk kepada perubahan biologi yang dilaporkan berlaku tanpa peningkatan suhu yang ketara, termasuk perubahan pada fungsi selular, tekanan oksidatif dan ekspresi gen, namun mekanisme tepatnya masih belum dikenal pasti sepenuhnya dan masih menjadi perbincangan saintifik (Cappucci *et al.* 2022; Karipidis *et al.* 2021).

Beberapa kajian epidemiologi dan pemerhatian telah menilai hubungan antara pendedahan kronik RF-EMF dengan pelbagai hasil kesihatan termasuk sistem saraf, sistem endokrin dan fungsi reproduktif. Walau bagaimanapun, dapatan yang diperoleh masih tidak konsisten kerana perbezaan reka bentuk kajian, kaedah penilaian pendedahan, tempoh susulan, jenis sumber RF-EMF dan faktor pembauran lain boleh mempengaruhi tafsiran keputusan (Bortkiewicz 2019; Rathebe 2023; Selmaoui & Tountou 2021). Dalam konteks pekerjaan, kumpulan seperti juruteknik telekomunikasi, pekerja penyelenggaraan antena dan pekerja yang berada berhampiran sumber pemancar berpotensi mengalami corak pendedahan yang berbeza daripada populasi umum. Oleh itu, penilaian pendedahan pekerjaan perlu mengambil kira jarak daripada sumber, tempoh tugas, tahap kuasa pancaran dan pematuhan kepada had pendedahan yang ditetapkan (ICNIRP 2020; Jeschke *et al.* 2022).

Kemunculan teknologi telekomunikasi baharu seperti 5G, antena pintar, pembentukan pancaran dan sistem berbilang input berbilang output turut mengubah corak pendedahan RF-EMF dalam populasi. Sistem 5G yang menggunakan *massive MIMO* dan pembentukan pancaran boleh menghasilkan corak pendedahan RF-EMF yang berubah mengikut masa, lokasi pengguna dan arah pancaran antena (Aerts, Wiert & Bolte 2024). Oleh itu, penilaian pendedahan RF-EMF dalam era 5G memerlukan pendekatan pengukuran dan pemodelan yang mengambil kira variasi ruang dan masa, bukan hanya anggaran statik berdasarkan jarak daripada pemancar (Aerts, Wiert & Bolte 2024; Ramirez-Vazquez *et al.* 2024).

Walaupun garis panduan antarabangsa telah dibangunkan untuk mengehadkan pendedahan RF-EMF, perbincangan tentang implikasi kesihatan jangka panjang masih

berterusan. Garis panduan ICNIRP 2020 menetapkan had pendedahan berasaskan dosimetri bagi melindungi manusia daripada kesan buruk yang telah dikenal pasti akibat pendedahan RF-EMF (ICNIRP 2020). Namun, bukti kesihatan bagi pendedahan kronik, pendedahan aras rendah dan pendedahan kepada frekuensi baharu masih memerlukan penilaian lanjut yang menggunakan reka bentuk kajian lebih baik, kawalan faktor pembaur (*confounding*) yang lebih teliti dan dosimetri yang lebih tepat (Cordelli *et al.* 2024; Karipidis *et al.* 2021). Oleh itu, kajian jangka panjang yang direka bentuk dengan baik masih diperlukan bagi menjelaskan implikasi sebenar pendedahan kronik RF-EMF terhadap kesihatan manusia khususnya bagi sistem biologi yang sensitif seperti sistem reproduktif lelaki.

2.10.1 Tempoh pendedahan harian dalam kajian RF-EMF

Tempoh pendedahan harian merupakan salah satu faktor penting dalam reka bentuk kajian RF-EMF kerana tindak balas biologi boleh dipengaruhi oleh tempoh dedahan. Dalam kajian bioelektromagnetik, tempoh dedahan yang berbeza sering digunakan untuk menilai sama ada sesuatu tindak balas biologi berlaku secara kebergantungan masa atau menunjukkan pola adaptasi selepas pendedahan berulang (Cordelli *et al.* 2024; Jamaludin *et al.* 2025).

Dari sudut dosimetri dan keselamatan pendedahan, tempoh dedahan juga penting kerana penyerapan tenaga RF-EMF berkait dengan pemanasan tisu. Garis panduan ICNIRP menekankan bahawa penilaian pendedahan RF-EMF perlu mengambil kira purata masa pendedahan kerana kenaikan suhu tisu tidak hanya bergantung kepada magnitud medan, tetapi juga kepada tempoh tenaga diserap dan keupayaan tisu melepaskan haba (ICNIRP 2020). Oleh itu, tempoh dedahan perlu dilaporkan dengan jelas supaya hubungan antara pendedahan fizikal dan tindak balas biologi dapat ditafsirkan dengan lebih tepat.

Dalam kajian *in vivo*, tempoh pendedahan harian yang berbeza telah digunakan untuk menilai kesan RF-EMF terhadap sistem reproduktif lelaki. Sebagai contoh, kajian pendedahan Wi-Fi 2.45 GHz dalam tikus Sprague Dawley menunjukkan bahawa tempoh pendedahan harian boleh mempengaruhi kualiti sperma dan histopatologi testis,

namun hubungan antara tempoh pendedahan dan keterukan kesan tidak semestinya berkadar langsung (Jamaludin *et al.* 2025; Vijay *et al.* 2025). Keadaan ini menunjukkan bahawa tempoh pendedahan bukan sahaja boleh meningkatkan jumlah dedahan terkumpul, tetapi juga boleh mencetuskan tindak balas pampasan (*compensatory*) atau adaptasi biologi dalam tisu reproduktif.

Selain bukti eksperimen, pemilihan tempoh pendedahan harian dalam kajian RF-EMF juga perlu mengambil kira corak pendedahan manusia dalam kehidupan harian. Dalam penggunaan teknologi komunikasi moden, pendedahan kepada RF-EMF boleh berlaku secara berulang melalui penggunaan telefon pintar, rangkaian Wi-Fi, peranti boleh pakai dan infrastruktur telekomunikasi. Laporan *Internet Users Survey 2024* menunjukkan bahawa tempoh penggunaan Internet harian dalam kalangan pengguna di Malaysia adalah berbeza, termasuk 21.5% pengguna yang menggunakan Internet selama 1 hingga 4 jam sehari dan 25.6% pengguna yang menggunakan Internet selama 5 hingga 8 jam sehari (MCMC 2025). Justeru, tempoh sekitar 1 jam boleh digunakan sebagai aras dedahan singkat yang berada pada hujung bawah julat penggunaan harian 1 hingga 4 jam, manakala tempoh sekitar 7 jam boleh digunakan sebagai aras dedahan berpanjangan yang berada dalam julat penggunaan harian 5 hingga 8 jam.

Walau bagaimanapun, tempoh dedahan dalam eksperimen RF-EMF tidak boleh dianggap sebagai simulasi langsung kepada satu corak penggunaan peranti tertentu kerana pendedahan sebenar manusia dipengaruhi oleh jenis peranti, jarak daripada sumber, kuasa pancaran, konfigurasi rangkaian, arah pancaran dan keadaan persekitaran. Oleh itu, tempoh dedahan seperti 1 jam dan 7 jam lebih sesuai difahami sebagai dua aras perbandingan masa, iaitu dedahan singkat dan dedahan berpanjangan, yang membolehkan penilaian terhadap kemungkinan tindak balas biologi yang bergantung kepada tempoh pendedahan.

2.11 INTERAKSI BIOFIZIK RF-EMF

Interaksi antara RF-EMF dengan sistem biologi ditentukan oleh ciri fizikal gelombang elektromagnetik dan sifat dielektrik tisu yang terdedah, termasuk kekonduksian elektrik, kebolehtelapan relatif, kandungan air, ketumpatan dan keadaan terma tisu. Sifat dielektrik ini menentukan bagaimana medan elektromagnetik berinteraksi dengan tubuh, termasuk jumlah tenaga yang dipantulkan, dihantar dan diserap oleh tisu (Gabriel, Gabriel & Corthout 1996a; Porter *et al.* 2024; Sasaki *et al.* 2022). Apabila gelombang RF mengenai tisu biologi, bahagian tenaga yang diserap menjadi asas kepada interaksi biofizik dan potensi kesan biologinya. Dalam konteks ini, penilaian dosimetri adalah penting kerana tafsiran terhadap kesan biologi RF-EMF bergantung kepada kuantiti tenaga yang benar-benar diserap oleh tisu, bukan sekadar kepada kehadiran sumber pancaran. SAR digunakan secara meluas untuk menggambarkan kadar penyerapan tenaga RF oleh unit jisim tisu biologi, khususnya dalam julat frekuensi di bawah 6 GHz. Walau bagaimanapun, bagi frekuensi yang lebih tinggi terutamanya melebihi 6 GHz, pemendapan tenaga menjadi lebih superfisial dan metrik seperti ketumpatan kuasa terserap menjadi lebih sesuai untuk menilai pemanasan permukaan (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Oleh itu, pemahaman terhadap interaksi biofizik RF-EMF memerlukan pertimbangan serentak terhadap sifat gelombang, sifat tisu dan kuantiti dosimetri yang sesuai sebelum sebarang implikasi biologi dirumuskan.

2.12 KADAR PENYERAPAN KHUSUS (SAR)

2.12.1 Definisi dan prinsip SAR

SAR merujuk kepada kadar tenaga elektromagnetik yang diserap oleh tisu biologi apabila terdedah kepada gelombang frekuensi radio. SAR biasanya dinyatakan dalam unit watt per kilogram (W kg^{-1}) dan digunakan secara meluas sebagai metrik dosimetri untuk menilai pendedahan tisu terhadap RF-EMF, terutamanya dalam konteks keselamatan peranti komunikasi tanpa wayar seperti telefon bimbit dan penghala Wi-Fi (Seetharaman *et al.* 2022).

Secara prinsip, SAR bergantung kepada hubungan antara medan elektrik yang teraruh dalam tisu, kekonduksian elektrik tisu, dan ketumpatan jisim tisu berkenaan. Oleh itu, SAR bukan sekadar ditentukan oleh kuasa sumber pancaran, tetapi juga oleh bagaimana gelombang elektromagnetik berinteraksi dengan struktur dan sifat fizikal tisu yang terdedah (Asif *et al.* 2018). Secara amalan, penentuan SAR boleh dilakukan melalui pengukuran eksperimen menggunakan fantom atau model fizikal, atau melalui simulasi numerik menggunakan perisian elektromagnetik berdasarkan model taburan medan dalam tisu biologi (Kenny 2024).

Formula asas bagi pengiraan SAR adalah:

$$SAR = \frac{\sigma E^2}{\rho}$$

SAR = Kadar Penyerapan Khusus (dalam W kg^{-1})

σ = Kekonduksian elektrik bahan sampel (*electricity conductivity*) (S/m)

E = Medan elektrik (*electric field*) (V/m)

ρ = Ketumpatan bahan sampel (*mass density*) (kg/m^3)

Piawaian antarabangsa seperti yang ditetapkan oleh *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection* (ICNIRP) dan Suruhanjaya Komunikasi dan Multimedia Malaysia (SKMM) menggunakan nilai SAR untuk memastikan bahawa peranti mematuhi tahap pendedahan maksimum yang dibenarkan (Jadual 2.1). Panduan ini bertujuan untuk melindungi individu daripada kesan kesihatan akibat pendedahan kepada medan elektromagnetik frekuensi radio. Had SAR keseluruhan badan sebanyak 0.08 W kg^{-1} bertujuan untuk memastikan keselamatan keseluruhan tubuh, manakala had SAR tempatan adalah untuk melindungi bahagian-bahagian tubuh yang lebih terdedah seperti kepala dan anggota badan.

Jadual 2.1 Had SAR mengikut *International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection* (ICNIRP).

Parameter	Had SAR ICNIRP
SAR keseluruhan badan	0.08 W kg^{-1}
SAR tempatan (kepala dan batang tubuh, diukur dalam 10 g tisu)	2 W kg^{-1}
SAR tempatan (bahagian tisu di tangan, pergelangan tangan, kaki, dan pergelangan kaki, diukur dalam 10 g tisu)	4 W kg^{-1}

2.12.2 Faktor yang mempengaruhi nilai SAR

Nilai SAR dipengaruhi oleh pelbagai faktor yang berkaitan dengan sumber pancaran, konfigurasi pendedahan dan sifat tisu biologi. Antara faktor utama ialah frekuensi gelombang kerana frekuensi menentukan panjang gelombang, kedalaman penembusan dan corak taburan tenaga dalam tisu (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Secara umum, peningkatan frekuensi menyebabkan pemendapan tenaga menjadi lebih cetek dan lebih tertumpu pada lapisan permukaan, manakala frekuensi yang lebih rendah lazimnya mempunyai penembusan yang lebih mendalam (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Oleh itu, perbandingan SAR antara frekuensi perlu mengambil kira perubahan kedalaman penembusan dan isipadu tisu yang menyerap tenaga RF.

Selain frekuensi, sifat dielektrik tisu turut mempengaruhi tahap penyerapan tenaga RF. Sifat seperti kekonduksian elektrik, ketelusan elektrik relatif, kandungan air, kandungan ion dan ketumpatan tisu menentukan bagaimana Medan elektromagnetik dipantulkan, dihantar atau diserap oleh tisu biologi (Gabriel, Gabriel & Corthout 1996c; Porter *et al.* 2024; Sasaki *et al.* 2022). Tisu yang mempunyai kandungan air dan ion yang lebih tinggi lazimnya menunjukkan tindak balas dielektrik yang berbeza berbanding tisu yang kurang konduktif, lalu menghasilkan corak penyerapan tenaga yang tidak seragam antara jenis tisu (Porter *et al.* 2024; Sasaki *et al.* 2022). Oleh itu, penggunaan nilai sifat dielektrik yang tepat amat penting dalam pemodelan SAR kerana perubahan kecil pada parameter tisu boleh mempengaruhi taburan medan dan anggaran tenaga yang diserap.

Jenis peranti, geometri antena dan tahap kuasa pancaran juga menyumbang kepada variasi SAR. Secara umum, sumber yang memancarkan kuasa lebih tinggi atau berada lebih hampir dengan tubuh berpotensi menghasilkan penyerapan tenaga yang lebih tinggi pada kawasan tisu yang terdedah (ICNIRP 2020; Wessapan & Rattanadecho 2018). Namun, hubungan antara kuasa pancaran dan SAR tidak semestinya linear kerana nilai SAR turut dipengaruhi oleh bentuk antena, arah pancaran, polarisasi medan, keadaan medan dekat atau medan jauh, serta gandingan elektromagnetik antara sumber dan tubuh (Chiaramello *et al.* 2019; Wessapan & Rattanadecho 2018).

Konfigurasi pendedahan seperti orientasi tubuh, jarak daripada sumber dan lokasi anatomi yang terdedah turut mempengaruhi nilai SAR. Kawasan tubuh yang berada lebih hampir dengan sumber pancaran lazimnya menerima medan yang lebih kuat berbanding kawasan yang lebih jauh khususnya dalam keadaan medan dekat (ICNIRP 2020; Wessapan & Rattanadecho 2018). Selain itu, perubahan orientasi tubuh atau kedudukan sumber boleh mengubah taburan medan elektrik dalam tisu dan menghasilkan variasi SAR antara lokasi anatomi yang berlainan (Turgut & Engiz 2023; Wessapan & Rattanadecho 2018).

Faktor persekitaran juga boleh mempengaruhi taburan Medan elektromagnetik dan seterusnya mengubah nilai SAR. Kehadiran objek logam, permukaan pemantul, struktur ruang sekeliling dan keadaan persekitaran tertutup boleh menyebabkan

pantulan, serakan atau penguatan medan setempat (Ahsan Ashraf & Celik 2024; Bhargava, Rattanadecho & Wessapan 2020; Chiaramello *et al.* 2019). Oleh itu, penilaian SAR yang tepat memerlukan pertimbangan serentak terhadap frekuensi, sifat tisu, ciri sumber pancaran, geometri pendedahan dan keadaan persekitaran (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020).

2.12.3 Jarak sumber dan pertimbangan pendedahan RF-EMF

Jarak antara sumber RF-EMF dan tisu biologi merupakan faktor penting dalam penilaian pendedahan kerana ia mempengaruhi magnitud medan elektromagnetik, taburan tenaga yang diserap dan nilai dosimetri yang terhasil (Foster, Ziskin & Balzano 2022; ICNIRP 2020). Secara umum, pertambahan jarak daripada sumber pancaran boleh mengurangkan tahap pendedahan, namun corak sebenar turut dipengaruhi oleh frekuensi, kuasa pancaran, orientasi antena, keadaan medan dekat, pantulan gelombang dan geometri persekitaran pendedahan (Foster, Ziskin & Balzano 2022; ICNIRP 2020).

Dalam penilaian dosimetri RF-EMF, kesan jarak tidak boleh dianggap hanya sebagai hubungan songsang yang ringkas kerana taburan medan berhampiran antena boleh menjadi tidak seragam khususnya dalam keadaan medan dekat (Foster, Ziskin & Balzano 2022). Dalam keadaan ini, perubahan kecil pada jarak, kedudukan objek biologi atau orientasi sumber pancaran boleh mengubah taburan medan dan pemendapan tenaga dalam tisu (Foster, Ziskin & Balzano 2022; ICNIRP 2020). Oleh itu, jarak sumber-ke-objek perlu dilaporkan dengan jelas dalam kajian RF-EMF supaya nilai SAR, ketumpatan kuasa atau parameter dosimetri lain dapat ditafsirkan dengan lebih tepat dan dapat dibandingkan antara kajian (Foster, Ziskin & Balzano 2022; ICNIRP 2020).

Pertimbangan jarak juga berkait dengan kategori penilaian pendedahan. Dalam beberapa piawaian pematuhan peranti RF, jarak 20 cm digunakan sebagai ambang praktikal untuk membezakan keadaan pendedahan dekat daripada keadaan pendedahan yang lebih jauh bagi kategori peranti tertentu (ISED 2023). Sebagai contoh, piawaian RSS-102 menyatakan bahawa penilaian SAR diperlukan apabila jarak pemisahan antara pengguna atau pemerhati dengan peranti adalah kurang daripada atau sama dengan 20 cm (ISED 2023). Walau bagaimanapun, jarak 20 cm tidak wajar ditafsirkan sebagai jarak selamat universal kerana keperluan pematuhan masih bergantung kepada jenis peranti, frekuensi operasi, kuasa pancaran, kedudukan antena dan keadaan penggunaan (ICNIRP 2020; ISED 2023).

Secara keseluruhannya, jarak sumber merupakan pemboleh ubah penting dalam kajian RF-EMF kerana ia mempengaruhi tahap medan yang diterima, corak pemendapan tenaga dan tafsiran dosimetri (Foster, Ziskin & Balzano 2022; ICNIRP 2020). Pelaporan jarak sumber-ke-objek yang jelas bersama maklumat frekuensi, kuasa pancaran, orientasi antena dan metrik dosimetri yang digunakan adalah penting untuk meningkatkan ketepatan tafsiran biologi dan kebolehbandingan antara kajian (Foster, Ziskin & Balzano 2022; ICNIRP 2020).

2.13 KESAN HABA

Kesan haba (*thermal effect*) merupakan mekanisme utama yang diterima dalam menerangkan interaksi RF-EMF dengan tisu biologi pada tahap pendedahan yang mencukupi. Apabila tenaga RF diserap oleh tisu, sebahagian tenaga tersebut boleh ditukarkan kepada haba dan menyebabkan peningkatan suhu setempat atau sistemik (ICNIRP 2020). Magnitud peningkatan suhu ini bergantung kepada kadar penyerapan tenaga, tempoh pendedahan, taburan tenaga dalam tisu, kadar kehilangan haba dan keupayaan termoregulasi tisu serta organisma yang terdedah (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Oleh itu, tafsiran kesan haba akibat RF-EMF perlu mengambil kira bukan sahaja nilai pendedahan luaran, tetapi juga kuantiti dosimetri dalaman seperti kadar penyerapan khusus dan ketumpatan kuasa terserap (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020).

Dalam kajian eksperimen, pendedahan kepada RF-EMF pada aras dosimetri yang mencukupi boleh mencetuskan tindak balas haba yang diikuti oleh perubahan fisiologi dan molekul. Pendedahan pada SAR seluruh badan 4 W kg^{-1} dalam model tikus telah dilaporkan meningkatkan suhu teras badan dan mengaktifkan ekspresi gen berkaitan tekanan seperti protein kejutan haba di kawasan otak tertentu, manakala pendedahan pada aras lebih rendah tidak menghasilkan tindak balas yang sama (Ohtani *et al.* 2016). Dapatan ini menunjukkan bahawa kesan biologi melalui mekanisme haba lazimnya bergantung kepada aras pendedahan, tempoh dedahan dan keupayaan organisma mengawal suhu badan (ICNIRP 2020; Ohtani *et al.* 2016).

Bagi tujuan perlindungan kesihatan, had pendedahan antarabangsa terhadap RF-EMF dibangunkan berasaskan kuantiti dosimetri yang bertujuan mengelakkan peningkatan suhu tisu yang berpotensi memudaratkan. Pada frekuensi yang lebih rendah iaitu sehingga 6 GHz, SAR masih digunakan secara meluas untuk menilai jumlah tenaga RF yang diserap oleh tisu badan (ICNIRP 2020). Namun, bagi frekuensi melebihi 6 GHz, pemendapan tenaga menjadi lebih cetek dan lebih tertumpu pada lapisan permukaan menyebabkan ketumpatan kuasa terserap menjadi metrik yang lebih sesuai untuk menilai pendedahan setempat dan risiko pemanasan permukaan (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Oleh itu, kesan haba RF-EMF perlu dinilai berdasarkan

frekuensi, geometri pendedahan dan metrik dosimetri yang sepadan dengan kedalaman penembusan tenaga dalam tisu.

2.13.1 Mekanisme peningkatan suhu oleh RF-EMF

Peningkatan suhu akibat RF-EMF berlaku terutamanya melalui pemanasan dielektrik, iaitu apabila tenaga elektromagnetik diserap oleh tisu dan ditukarkan kepada haba. Dalam proses ini, tindak balas dipol air dan pergerakan ion dalam tisu menyumbang kepada pemendapan tenaga elektromagnetik sebagai haba (Baker-Jarvis & Kim 2012; ICNIRP 2020). Tahap pemanasan yang berlaku bergantung kepada frekuensi, intensiti medan, tempoh pendedahan, serta sifat dielektrik tisu seperti kebolehtelapan relatif dan kekonduksian elektrik (ICNIRP 2020; Porter *et al.* 2024). Tisu dengan kandungan air dan ion yang tinggi lazimnya menunjukkan penyerapan tenaga RF yang berbeza berbanding tisu yang kurang berair, kerana sifat dielektrik tisu menentukan sejauh mana medan elektromagnetik dipantulkan, dihantar atau diserap oleh tisu (Porter *et al.* 2024).

Pemanasan akibat RF-EMF juga tidak semestinya seragam dalam seluruh tisu. Taburan suhu boleh dipengaruhi oleh geometri tubuh, kedudukan sumber, frekuensi, kedalaman penembusan, aliran darah, kekonduksian haba tisu dan keupayaan penyejukan fisiologi (Foster *et al.* 2018; ICNIRP 2020). Oleh itu, walaupun nilai dosimetri keseluruhan adalah sederhana, kawasan tertentu masih boleh mengalami peningkatan suhu setempat yang lebih tinggi. Perkara ini menjadi lebih penting pada frekuensi tinggi khususnya melebihi 6 GHz, kerana pemendapan tenaga menjadi lebih cetek dan penilaian ketumpatan kuasa terserap lebih sesuai untuk menggambarkan risiko pemanasan permukaan berbanding SAR sahaja (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020).

2.13.2 Kesan terhadap tisu yang sensitif haba

Tisu yang sensitif terhadap haba lebih mudah mengalami gangguan fungsi apabila terdedah kepada peningkatan suhu, terutamanya jika peningkatan tersebut berlaku secara setempat atau berpanjangan. Kesan haba boleh menjejaskan kestabilan protein, integriti membran, homeostasis ionik dan aktiviti enzimatik, lalu mengubah fungsi normal sel dan tisu (ICNIRP 2020; Sienkiewicz *et al.* 2016). Sebagai tindak balas perlindungan, sel boleh mengaktifkan tindak balas kejutan haba yang melibatkan protein kejutan haba sebagai pengiring molekul untuk membantu penstabilan protein, mencegah salah lipatan protein dan menyokong pemulihan homeostasis selular selepas tekanan haba (Singh *et al.* 2024).

Beberapa tisu dan organ dilaporkan lebih sensitif terhadap gangguan haba, termasuk sistem saraf pusat, mata, kulit dan organ reproduktif (Cai, Qin & Peng 2021; Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; ICNIRP 2020). Dalam konteks sistem reproduktif lelaki, peningkatan suhu testis boleh mengganggu spermatogenesis, meningkatkan tekanan oksidatif dan menjejaskan kualiti sperma (Cai, Qin & Peng 2021; Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015). Dalam bidang klinikal, prinsip pemanasan tisu juga dimanfaatkan dalam terapi hipertermia, di mana haba terkawal digunakan sebagai pendekatan tambahan untuk melemahkan sel malignan, termasuk melalui gangguan pembaikan kerosakan DNA, peningkatan tekanan oksidatif dan modulasi mikro-persekitaran tumor (López Perez *et al.* 2020; Righini, Durham & Tsoutsou 2024). Walau bagaimanapun, dalam konteks pendedahan persekitaran, peningkatan suhu yang tidak dikawal atau pemanasan setempat pada tisu sensitif memerlukan penilaian dosimetri yang teliti bagi mengelakkan kesan biologi yang memudaratkan (ICNIRP 2020).

2.14 KESAN BUKAN HABA

Kesan bukan haba (*non-thermal effect*) RF-EMF merujuk kepada perubahan biologi yang dilaporkan berlaku tanpa peningkatan suhu tisu yang ketara (Gherardini *et al.* 2014; ICNIRP 2020). Namun, konsep ini kekal sebagai salah satu bidang yang paling banyak diperdebatkan dalam bioelektromagnetik kerana dapatan yang dilaporkan sering dipengaruhi oleh reka bentuk eksperimen, ketepatan dosimetri, kawalan suhu dan kebolehulangan eksperimen (Gherardini *et al.* 2014; ICNIRP 2020). Walaupun begitu, sejumlah kajian telah melaporkan perubahan molekul dan selular tertentu yang berpotensi berlaku di bawah keadaan pendedahan yang tidak menghasilkan pemanasan yang jelas (Cantu *et al.* 2023; Mokarram *et al.* 2017).

Secara umum, kesan bukan haba yang paling kerap dibincangkan melibatkan tekanan oksidatif, perubahan ekspresi gen, kerosakan DNA, gangguan laluan isyarat sel dan perubahan mekanisme epigenetik (Cantu *et al.* 2023; Eker *et al.* 2018; Lai 2021; Mokarram *et al.* 2017). Oleh itu, walaupun mekanisme asasnya belum dipersetujui sepenuhnya, perbincangan tentang kesan bukan haba tetap penting dalam memahami kemungkinan spektrum penuh tindak balas biologi terhadap RF-EMF.

2.14.1 Tekanan oksidatif dan perubahan genetik

Salah satu mekanisme yang kerap dibincangkan dalam kesan bukan haba RF-EMF ialah induksi tekanan oksidatif. Tekanan oksidatif berlaku apabila penghasilan spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*; ROS) melebihi keupayaan sistem antioksidan sel untuk meneutralkannya, lalu menyebabkan kerosakan terhadap lipid, protein dan DNA (Meyer *et al.* 2024; Schuermann & Mevissen 2021). Dalam konteks RF-EMF, bukti eksperimen menunjukkan bahawa pendedahan kepada medan elektromagnetik boleh mempengaruhi keseimbangan oksidatif dalam model sel dan haiwan, tetapi kekuatan bukti masih dipengaruhi oleh keseragaman reka bentuk kajian, frekuensi, dosimetri dan penanda biokimia yang digunakan (Meyer *et al.* 2024; Schuermann & Mevissen 2021). Oleh itu, tekanan oksidatif boleh dianggap sebagai laluan biologi yang berpotensi terlibat dalam tindak balas terhadap RF-EMF tetapi tafsirannya perlu dibuat secara berhati-hati.

Beberapa kajian eksperimen melaporkan perubahan pada penanda tekanan oksidatif selepas pendedahan RF-EMF termasuk peningkatan penanda peroksidasi lipid seperti malondialdehid dan perubahan aktiviti enzim antioksidan seperti superoksida dismutase dan katalase. Namun, ulasan sistematik terkini menunjukkan bahawa arah dan magnitud perubahan penanda oksidatif tidak seragam antara kajian, dan tahap keyakinan terhadap bukti masih terhad oleh perbezaan protokol pendedahan serta kualiti metodologi (Meyer *et al.* 2024). Oleh itu, perubahan penanda tekanan oksidatif selepas pendedahan RF-EMF lebih sesuai ditafsir sebagai bukti kemungkinan gangguan keseimbangan redoks, bukan sebagai kesan universal yang berlaku dalam semua keadaan pendedahan.

Selain tekanan oksidatif, RF-EMF juga telah dikaitkan dengan perubahan genetik dan ketidakstabilan genom dalam beberapa kajian. Perubahan yang pernah dilaporkan termasuk kerosakan DNA, perubahan kromosom dan peningkatan penanda ketidakstabilan genom, namun dapatan ini masih tidak konsisten antara populasi, model eksperimen dan kaedah penilaian yang digunakan (Gulati *et al.* 2024; Naarala, Kolehmainen & Juutilainen 2019). Kajian pemerhatian terhadap penduduk yang terdedah kepada RF-EMR daripada stesen pangkalan turut melaporkan penilaian terhadap ketidakstabilan genetik, peroksidasi lipid, lesi DNA dan aberasi kromosom, tetapi tafsiran bersebab masih terhad kerana reka bentuk pemerhatian mudah dipengaruhi oleh faktor pembaur dan ketidakpastian penilaian pendedahan (Gulati *et al.* 2024).

Perubahan epigenetik juga menjadi salah satu aspek yang semakin diberi perhatian dalam kajian RF-EMF. Pendedahan RF-EMF telah dilaporkan boleh mempengaruhi pemetilan (*methylation*) DNA pada unsur berulang seperti LINE-1 dan rDNA dalam model sel tertentu dan kesannya mungkin bergantung kepada jenis sel serta konteks genom yang dikaji (Ravaioli *et al.* 2023). Perubahan epigenetik seperti pemetilan DNA boleh mengubah ekspresi gen tanpa mengubah urutan DNA, lalu berpotensi mempengaruhi tindak balas sel terhadap tekanan persekitaran. Walau bagaimanapun, bukti epigenetik berkaitan RF-EMF masih terhad dan belum mencukupi untuk membuat kesimpulan yang menyeluruh terhadap risiko biologi jangka panjang.

Secara keseluruhannya, kajian kepustakaan menunjukkan bahawa tekanan oksidatif, kerosakan DNA, ketidakstabilan genom dan perubahan epigenetik merupakan laluan biologi yang berpotensi terlibat dalam kesan bukan haba RF-EMF. Namun, bukti yang tersedia masih tidak seragam dan sangat bergantung kepada model biologi, frekuensi, tempoh pendedahan, dosimetri, kawalan suhu serta kaedah pengukuran yang digunakan (Gulati *et al.* 2024; Meyer *et al.* 2024). Oleh itu, kesan bukan haba RF-EMF perlu dinilai secara bersepadu bersama parameter lain seperti protein kejutan haba, sitokin radang, apoptosis dan fungsi sperma supaya tafsiran biologi yang dibuat lebih seimbang.

2.14.2 Mekanisme molekul tanpa peningkatan suhu

Bagi menjelaskan kesan biologi RF-EMF yang berlaku tanpa melibatkan peningkatan suhu tisu, beberapa kajian telah mencadangkan bahawa pendedahan ini berpotensi mempengaruhi laluan isyarat sel dan fungsi molekul tertentu melalui mekanisme yang tidak berkaitan secara langsung dengan pemanasan tisu.

Mekanisme yang sering dibincangkan termasuk perubahan pada fungsi membran sel, pengaliran ion, laluan transduksi isyarat, ekspresi gen dan pengaktifan tindak balas tekanan selular (Gherardini *et al.* 2014; Parham *et al.* 2016; Wust *et al.* 2020). Walau bagaimanapun, mekanisme ini masih belum diterima sebagai penjelasan yang konsisten bagi semua kesan biologi RF-EMF kerana dapatan kajian berbeza mengikut jenis sel, frekuensi, intensiti, tempoh pendedahan, modulasi isyarat, dosimetri dan kawalan suhu eksperimen (ICNIRP 2020; Romeo *et al.* 2022).

Homeostasis kalsium intrasel merupakan salah satu laluan yang berpotensi kerana ion kalsium berfungsi sebagai penghantar isyarat kedua yang mengawal proliferasi, metabolisme, tindak balas tekanan dan apoptosis sel. Kajian lepas telah mencadangkan bahawa RF-EMF boleh mempengaruhi aktiviti saluran kalsium berpagar voltan (*voltage-gated calcium channels*; VGCC) dan seterusnya mengubah kepekatan kalsium intrasel yang berpotensi mencetuskan perubahan dalam laluan isyarat selular dan tindak balas fisiologi (Pall 2015; Panagopoulos *et al.* 2021). Selain itu, beberapa kajian mencadangkan bahawa RF-EMF boleh mempengaruhi laluan

isyarat berkaitan kalsium dan membran sel, tetapi bukti keseluruhannya masih tidak seragam dan belum mencukupi untuk membentuk kesimpulan mekanistik yang kukuh (Parham *et al.* 2016; SCHEER 2023). Oleh itu, perubahan kalsium akibat RF-EMF lebih sesuai ditafsir sebagai mekanisme yang dicadangkan, bukan sebagai mekanisme yang telah dibuktikan secara universal.

Laluan berasaskan membran pula mencadangkan bahawa RF-EMF boleh mempengaruhi sifat elektrofisiologi membran, pengaliran ion dan keseimbangan elektrokimia sel (Panagopoulos, Johansson & Carlo 2015; Panagopoulos *et al.* 2021). Kajian hipertermia RF pada sel kanser menunjukkan bahawa pendedahan RF boleh menghasilkan kesan biologi tambahan berbanding pemanasan air pada suhu yang sama, lalu menyokong kemungkinan wujudnya komponen bukan haba pada tahap membran dan fluks ion (Wust *et al.* 2020). Walau bagaimanapun, dapatan ini perlu ditafsir secara berhati-hati kerana kajian tersebut menggunakan sistem hipertermia RF dalam model sel kanser, dan tidak boleh digeneralisasikan secara langsung kepada pendedahan RF-EMF aras rendah dalam konteks telekomunikasi atau 5G.

Kualiti metodologi merupakan faktor penting dalam menilai dakwaan kesan molekul tanpa peningkatan suhu. Kajian yang lebih meyakinkan perlu mempunyai kawalan sham yang sesuai, pembutaan penilaian, pengukuran suhu yang teliti, dosimetri yang jelas dan pelaporan parameter pendedahan yang mencukupi (Foster, Ziskin & Balzano 2022; Romeo *et al.* 2022; Vijayalaxmi & Foster 2021). Tanpa kawalan ini, perubahan molekul yang dilaporkan sukar dipastikan sama ada benar-benar berpunca daripada kesan bukan haba RF-EMF, variasi suhu kecil yang tidak dikesan, atau kelemahan reka bentuk eksperimen. Secara keseluruhannya, mekanisme molekul tanpa peningkatan suhu kekal relevan dalam perbincangan kesan bukan haba RF-EMF kerana ia dapat membantu menjelaskan kemungkinan tindak balas biologi yang tidak sepenuhnya diterangkan oleh pemanasan tisu.

2.15 TEKNOLOGI 5G BERFREKUENSI TINGGI

Teknologi komunikasi mudah alih generasi kelima (5G) dibangunkan untuk memenuhi keperluan komunikasi moden yang menuntut kadar pemindahan data yang lebih tinggi, kependaman yang lebih rendah, kapasiti rangkaian yang lebih besar dan kebolehsambungan bagi bilangan peranti yang semakin meningkat. Berbanding generasi sebelumnya, 5G direka bentuk untuk menyokong bukan sahaja komunikasi manusia kepada manusia, tetapi juga komunikasi mesin kepada mesin, internet pelbagai benda (*Internet of Things*; IoT), automasi industri, realiti maya, tele-perubatan dan sistem pengangkutan pintar (Holma & Nakamura 2019).

Bagi mencapai keperluan tersebut, 5G menggunakan spektrum frekuensi yang lebih luas dan pendekatan rangkaian yang lebih fleksibel berbanding 4G. Pelaksanaan 5G melibatkan penggunaan frekuensi rendah, frekuensi pertengahan dan frekuensi tinggi, termasuk gelombang milimeter. Tambahan pula, 5G juga terlibat dalam penggunaan teknologi seperti pembentukan alur isyarat, sel kecil dan sistem antena berbilang elemen. Oleh itu, 5G bukan sekadar peningkatan kelajuan data, tetapi merupakan perubahan seni bina komunikasi tanpa wayar yang melibatkan pengoptimuman spektrum, kecukupan tenaga dan kapasiti rangkaian secara serentak (Holma & Nakamura 2024; Larsson *et al.* 2014).

2.15.1 Evolusi teknologi komunikasi tanpa wayar

Perkembangan teknologi komunikasi mudah alih bermula daripada generasi kedua (2G) yang menumpukan kepada perkhidmatan suara digital dan mesej teks, diikuti generasi ketiga (3G) yang memperkenalkan akses data mudah alih yang lebih meluas. Generasi keempat (4G) kemudiannya mempertingkatkan kapasiti rangkaian dan kadar pemindahan data, sekali gus membolehkan penggunaan internet mudah alih berkelajuan tinggi secara meluas dalam aplikasi harian. Evolusi ini menunjukkan bahawa setiap generasi komunikasi tanpa wayar dibangunkan untuk memenuhi tuntutan penggunaan data yang semakin kompleks dan luas (Jadual 2.2) (Holma & Nakamura 2019).

Kemunculan 5G menandakan peralihan daripada rangkaian yang tertumpu kepada perkhidmatan jalur lebar mudah alih kepada rangkaian yang menyokong pelbagai kelas aplikasi secara serentak. Selain kadar data yang jauh lebih tinggi, 5G juga direka untuk menawarkan kependaman ultra rendah, kebolehpercayaan yang tinggi, dan keupayaan menghubungkan sejumlah besar peranti dalam satu masa. Ciri-ciri ini membolehkan 5G menyokong aplikasi seperti kenderaan tanpa pemandu, bandar pintar, automasi industri, pemantauan masa nyata dan komunikasi mesin berskala besar (Holma & Nakamura 2024; Larsson *et al.* 2014).

Dari sudut teknikal, evolusi kepada 5G turut melibatkan perubahan penting pada reka bentuk antara-muka radio, penggunaan spektrum yang lebih pelbagai, serta integrasi teknik lanjutan seperti input-berbilang-output-berbilang (*multiple input multiple output*; MIMO) berskala besar dan pembentukan alur isyarat (*beamforming*). Perubahan ini diperlukan bagi meningkatkan kecekapan spektrum dan prestasi rangkaian, khususnya dalam persekitaran padat pengguna dan keperluan kapasiti tinggi. Justeru, evolusi 5G dapat dilihat sebagai kesinambungan pembangunan teknologi komunikasi mudah alih yang semakin bergantung pada pengurusan spektrum yang lebih kompleks dan penggunaan frekuensi yang semakin tinggi (Holma & Nakamura 2024; Larsson *et al.* 2014).

Jadual 2.2 Jenis teknologi frekuensi radio dan ciri-ciri.

Teknologi Frekuensi Radio	Frekuensi	Kegunaan	Ciri-ciri
2G (Second Generation)	900 MHz dan 1800 MHz.	Perkhidmatan suara asas dan mesej teks (SMS)	Kelajuan data yang rendah sekitar 14.4 kbps hingga 64 kbps. Teknologi utama adalah GSM (<i>Global System for Mobile Communications</i>).
3G (Third Generation)	800 MHz, 850 MHz, 900 MHz, 1900 MHz, dan 2100 MHz	Suara, SMS dan data internet mudah alih	Kelajuan data yang lebih tinggi berbanding 2G dari 200 kbps hingga ke beberapa Mbps. Teknologi utama termasuk UMTS (<i>Universal Mobile Telecommunications System</i>) dan HSPA (<i>High Speed Packet Access</i>).
4G (Fourth Generation)	700 MHz, 800 MHz, 1800 MHz, 2600 MHz	Suara, SMS, dan data internet berkelajuan tinggi	Kelajuan data yang lebih tinggi daripada 3G kebiasaannya antara 10 Mbps hingga 1 Gbps.
5G (Fifth Generation)	Sub-6 GHz (contoh: 3.5 GHz) dan mmWaves (24 GHz hingga 100 GHz)	Komunikasi suara, SMS, data internet berkelajuan ultra tinggi, dan aplikasi IoT (<i>Internet of Things</i>)	Teknologi utama adalah LTE (<i>Long Term Evolution</i>) Kelajuan data yang jauh lebih tinggi, kependaman rendah dan kapasiti rangkaian yang lebih besar. Kecepatan data boleh mencapai beberapa Gbps. Teknologi ini menyokong pelbagai aplikasi canggih seperti kenderaan tanpa pemandu, teleperubatan, dan industri pintar (<i>Virtual Reality & Augmented Reality</i>)

2.15.2 Julat frekuensi dan gelombang milimeter dalam 5G

Teknologi 5G menggunakan spektrum frekuensi yang luas bagi memenuhi keperluan yang berbeza dari segi liputan, kapasiti rangkaian dan kadar pemindahan data. Secara umum, spektrum 5G boleh dibahagikan kepada tiga julat utama, iaitu frekuensi rendah, frekuensi pertengahan dan frekuensi tinggi atau gelombang milimeter. Setiap julat ini mempunyai ciri penyebaran isyarat dan aplikasi teknikal yang berbeza (Jadual 2.3).

Jadual 2.3 Kategori julat frekuensi 5G dan aplikasi.

Julat	Frekuensi	Ciri-ciri	Aplikasi
Rendah	<1 GHz	Liputan luas, kebolehtelapan isyarat yang baik, kependaman rendah, sambungan yang boleh dipercayai	Liputan kawasan luar bandar dan pinggir bandar, komunikasi kritikal
Pertengahan	1–6 GHz	Keseimbangan antara liputan dan kapasiti, berkesan di kawasan bandar, spektrum utama untuk 5G	Pelaksanaan di kawasan bandar, jalur lebar mudah alih yang dipertingkatkan
Tinggi	>24 GHz (mmWaves)	Kapasiti dan kadar data yang tinggi, julat liputan terhad, memerlukan pemasangan sel kecil secara padat	Kawasan bandar padat, kawasan tumpuan, pemindahan data berkelajuan tinggi

Frekuensi rendah, lazimnya di bawah 1 GHz menawarkan liputan yang luas dan kebolehtelapan isyarat yang baik, menjadikannya sesuai untuk kawasan luar bandar dan aplikasi yang memerlukan sambungan stabil pada jarak jauh. Frekuensi pertengahan dalam julat sekitar 1 hingga 6 GHz pula memberikan keseimbangan antara liputan dan kapasiti, dan telah menjadi jalur utama bagi pelaksanaan 5G di banyak negara. Dalam julat ini, jalur sekitar 3.3 hingga 5.0 GHz sering dianggap sebagai spektrum utama 5G kerana ia menyokong kadar data yang tinggi dengan liputan yang masih memadai dalam persekitaran bandar (Ahamed & Faruque 2021; Holma & Nakamura 2024). Julat atas pertengahan seperti 6.425 hingga 7.125 GHz juga semakin diberi perhatian bagi memenuhi keperluan kapasiti yang lebih tinggi dalam persekitaran padat (Morini *et al.* 2023).

Bagi menyokong aplikasi berkapasiti sangat tinggi, 5G turut menggunakan gelombang milimeter yang beroperasi pada frekuensi melebihi 24 GHz. Julat ini menyediakan lebar jalur yang jauh lebih besar dan membolehkan penghantaran data berkelajuan tinggi dengan kependaman yang rendah, sekali gus sesuai untuk aplikasi seperti penstriman video definisi ultra tinggi, realiti maya dan sambungan pelbagai peranti dalam persekitaran padat pengguna (Chittimoju & Yalavarthi 2021; Heath 2016). Walau bagaimanapun, gelombang milimeter mempunyai kekangan dari segi kehilangan penyebaran yang tinggi dan mudah terhalang oleh objek fizikal seperti bangunan, tumbuhan dan hujan, yang mengehadkan jarak liputannya (Alsaleem *et al.* 2020; Wang *et al.* 2018).

Bagi mengatasi kekangan tersebut, pelaksanaan 5G pada frekuensi tinggi biasanya disokong oleh penggunaan pembentukan alur isyarat, MIMO berskala besar dan penempatan stesen pangkalan bersaiz kecil secara lebih padat. Pembentukan alur isyarat membolehkan tenaga isyarat difokuskan ke arah tertentu, manakala MIMO berskala besar meningkatkan kecekapan spektrum melalui penggunaan pelbagai antena pada satu nod penghantaran. Penempatan sel kecil pula membantu mengurangkan jarak antara pemancar dan pengguna, sekali gus meningkatkan kestabilan sambungan dalam kawasan berketumpatan tinggi (Gui, Liu & Zhou 2022; Tarafder & Choi 2023; Xue, Fang & Xiao 2017).

Secara keseluruhannya, penggunaan frekuensi pertengahan dan gelombang milimeter dalam 5G menunjukkan bahawa teknologi ini bergantung kepada strategi spektrum yang pelbagai bagi mengimbangi keperluan liputan dan kapasiti. Dalam konteks ini, frekuensi sekitar 3.5 GHz mewakili jalur pertengahan yang penting untuk pelaksanaan 5G secara meluas, manakala 24 GHz mewakili julat gelombang milimeter yang berkait dengan komunikasi berkapasiti tinggi dan pemendapan tenaga yang lebih superfisial dalam tisu biologi. Perbezaan sifat fizikal antara kedua-dua julat frekuensi ini menjadikannya penting untuk dibincangkan dalam konteks dosimetri dan potensi interaksi biologi RF-EMF.

2.16 PENEMBUSAN GELOMBANG DAN KEDALAMAN DALAM TISU

2.16.1 Pengaruh frekuensi terhadap kedalaman penetrasi

Kedalaman penetrasi gelombang RF dalam tisu biologi dipengaruhi dengan kuat oleh frekuensi gelombang. Secara umum, apabila frekuensi meningkat, panjang gelombang menjadi lebih pendek dan penyerapan tenaga elektromagnetik menjadi semakin cetek dalam tisu. Pada frekuensi di bawah 6 GHz, medan RF boleh menembusi lebih dalam, manakala pada frekuensi yang lebih tinggi, khususnya melebihi 6 GHz, penyerapan tenaga menjadi semakin tertumpu pada tisu permukaan (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020).

Prinsip ini penting dalam membezakan jalur pertengahan 5G dengan gelombang milimeter. Frekuensi jalur pertengahan seperti sekitar 3.5 GHz cenderung menghasilkan pemendapan tenaga yang lebih volumetrik berbanding frekuensi gelombang milimeter sekitar 24 hingga 26 GHz, yang lebih cenderung menghasilkan pemendapan tenaga yang superfisial. Corak ini selari dengan kajian berangka yang menunjukkan bahawa peningkatan frekuensi mengurangkan kedalaman penetrasi dan menumpukan penyerapan pada lapisan yang lebih cetek (Foroughimehr *et al.* 2025; Gultekin & Siegel 2020).

Bagi gelombang milimeter, penyerapan tenaga lazimnya tertumpu pada lapisan permukaan seperti epidermis dan dermis, manakala pada frekuensi yang lebih rendah tenaga boleh melibatkan isipadu tisu yang lebih besar (Dréan *et al.* 2013; Zhadobov *et al.* 2011). Oleh itu, perbezaan frekuensi bukan sahaja mempengaruhi magnitud penyerapan tenaga, tetapi juga lokasi pemendapan tenaga dalam tisu. Perbezaan ini mempunyai implikasi penting terhadap taburan haba dan kemungkinan interaksi biologi kerana pemendapan yang superfisial lebih berkait dengan pemanasan setempat pada permukaan, manakala pemendapan yang lebih dalam berpotensi melibatkan tisu dalaman dalam isipadu yang lebih besar (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020).

Selain frekuensi, kedalaman penetrasi RF-EMF juga perlu ditafsir bersama ketebalan dan komposisi tisu permukaan yang melindungi organ sasaran. Dalam kulit manusia, gelombang milimeter menunjukkan kedalaman penetrasi yang cetek, iaitu

kurang daripada 1 mm pada 26 GHz dan sekitar 0.92 hingga 1.0 mm pada 30 GHz (Foroughimehr, Clayton & Yavari 2024). Sebaliknya, dinding skrotum manusia dilaporkan mempunyai ketebalan normal sekitar 2 hingga 8 mm berdasarkan penilaian ultrasonografi bergantung kepada keadaan kontraksi otot kremaster dan ciri tisu setempat (Tapping & Cast 2008). Oleh itu, bagi organ seperti testis yang dilindungi oleh lapisan skrotum, perbezaan ketebalan tisu permukaan, komposisi tisu dan kedalaman organ sasaran boleh mempengaruhi pemendapan tenaga RF-EMF serta taburan haba setempat.

2.16.2 Faktor-faktor tisu yang mempengaruhi penyerapan RF-EMF

Sifat fizikokimia tisu memainkan peranan penting dalam menentukan bagaimana tenaga RF diserap dan disebarkan. Parameter utama seperti kebolehtelapan relatif (*relative permittivity*) dan kekonduksian elektrik (*electrical conductivity*) menentukan interaksi antara medan elektromagnetik dengan tisu, termasuk jumlah tenaga yang dipantulkan, dihantar dan diserap, serta nilai SAR yang terhasil (Porter *et al.* 2024). Kandungan air dan ion dalam tisu turut mempengaruhi sifat dielektrik dan seterusnya corak penyerapan tenaga RF dengan magnitud penyerapan bergantung kepada frekuensi serta ciri tisu yang terdedah (Liporace *et al.* 2024a). Tambahan pula, kadar aliran darah mempengaruhi keupayaan tisu untuk menghilangkan haba. Oleh itu, tisu dengan perfusi darah yang lebih tinggi secara relatifnya lebih berupaya menyebarkan haba, manakala tisu dengan perfusi yang lebih rendah boleh lebih mudah mengalami peningkatan suhu setempat selepas penyerapan tenaga RF (ICNIRP 2020; Tucci *et al.* 2021).

Dalam konteks testis, penyerapan tenaga RF-EMF perlu ditafsir bersama sensitiviti haba organ ini kerana spermatogenesis memerlukan suhu testis yang lebih rendah daripada suhu teras badan (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; Kastelic & Rizzoto 2021). Penyerapan tenaga RF-EMF yang mencukupi boleh menghasilkan pemanasan setempat dan magnitud pemanasan tersebut bergantung kepada frekuensi, dosimetri, tempoh pendedahan serta keupayaan tisu melepaskan haba (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Beberapa kajian haiwan telah melaporkan perubahan pada tisu testis selepas pendedahan RF-EMF tertentu, termasuk vakuolisasi tubul seminiferus, pengurangan diameter tubul dan ketebalan epitelium germinal, perubahan pada sel

Leydig serta peningkatan apoptosis (Odaci *et al.* 2016; Saygin *et al.* 2011). Walau bagaimanapun, kesan tersebut tidak dilaporkan secara konsisten dalam semua kajian dan dipengaruhi oleh perbezaan frekuensi, aras pendedahan, tempoh dedahan, dosimetri dan kawalan suhu eksperimen (Assefa & Abdu 2025; Cordelli *et al.* 2024). Oleh itu, sifat tisu dan pola pemendapan tenaga perlu dipertimbangkan secara bersama apabila menilai kemungkinan kesan RF-EMF terhadap testis.

2.16.3 Simulasi dan pemodelan penyerapan RF-EMF dalam tisu

Simulasi dan pemodelan berangka merupakan pendekatan penting dalam menilai penembusan dan penyerapan tenaga RF-EMF dalam tisu biologi. Kaedah ini membolehkan taburan medan elektromagnetik, corak pemendapan tenaga dan anggaran dosimetri seperti SAR dinilai dalam model tisu dan model anatomi yang kompleks tanpa bergantung sepenuhnya kepada pengukuran eksperimen secara langsung. Pendekatan ini amat berguna apabila pendedahan sukar diukur secara tepat atau apabila melibatkan struktur anatomi yang kecil, tidak seragam dan sukar dicapai secara eksperimen (Foster, Ziskin & Balzano 2022; Hirata *et al.* 2021).

Dalam simulasi komputer, sifat dielektrik tisu lazimnya dimodelkan sebagai parameter yang berubah mengikut frekuensi bagi menghasilkan gambaran yang lebih realistik tentang bagaimana tisu bertindak balas terhadap gelombang elektromagnetik pada julat frekuensi yang berbeza. Pemodelan sedemikian membolehkan perbandingan dibuat antara frekuensi yang menembusi lebih dalam dengan frekuensi yang lebih tertumpu pada permukaan, serta membantu menjelaskan variasi taburan tenaga antara jenis tisu dan antara konfigurasi pendedahan yang berlainan (Gabriel, Gabriel & Corthout 1996b, 1996c; Liporace *et al.* 2024b; Porter *et al.* 2024).

Selain itu, pemodelan berangka juga penting dalam penilaian keselamatan kerana ia membolehkan pengenalpastian kawasan yang berpotensi mengalami pemendapan tenaga atau peningkatan suhu yang lebih tinggi secara setempat. Oleh itu, simulasi dosimetri menjadi komponen asas dalam memahami kaitan antara sifat fizikal pendedahan RF-EMF dan kemungkinan tindak balas biologi yang terhasil termasuk

dalam pembangunan had pendedahan berasaskan dosimetri dan suhu (Foster, Ziskin & Balzano 2022; Hirata *et al.* 2021).

2.16.4 Implikasi biologi terhadap keselamatan dan aplikasi RF-EMF

Dalam konteks keselamatan, piawaian pendedahan lazimnya dibangunkan berdasarkan kuantiti dosimetri seperti SAR atau bagi frekuensi yang lebih tinggi, metrik permukaan yang lebih sesuai dengan kenaikan suhu setempat (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Walaupun had pendedahan semasa direka bentuk untuk mencegah kesan haba yang memudaratkan, pemahaman lanjut tentang corak penembusan dan tindak balas biologi masih diperlukan khususnya bagi frekuensi tinggi yang digunakan dalam aplikasi komunikasi moden (Foster, Ziskin & Balzano 2022; ICNIRP 2020). Pengetahuan ini juga penting dalam aplikasi perubatan berasaskan RF seperti hipertermia, di mana taburan tenaga yang tepat perlu dikawal untuk memastikan keberkesanan dan keselamatan rawatan (Rodrigues *et al.* 2022).

Secara keseluruhannya, penembusan gelombang RF-EMF ke dalam tisu biologi bergantung kepada interaksi kompleks antara frekuensi, sifat tisu dan konfigurasi pendedahan (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Oleh itu, pendekatan dosimetri yang tepat dan pemodelan yang baik adalah penting dalam menyokong penilaian risiko serta penggunaan teknologi RF secara selamat dan bertanggungjawab (Foster, Ziskin & Balzano 2022; Hirata *et al.* 2021).

2.17 KEPADATAN ANTENA DAN PENDEDAHAN AWAM

Perkembangan infrastruktur 5G melibatkan gabungan stesen pangkalan makrosel dan sel kecil yang dipasang dengan lebih padat, khususnya di kawasan bandar dan persekitaran berkapasiti tinggi (Aerts *et al.* 2023). Hubungan antara kepadatan antenna dan tahap pendedahan RF-EMF adalah tidak bersifat linear kerana pendedahan persekitaran turut dipengaruhi oleh jarak penghantaran, taburan stesen pangkalan, kepadatan pengguna, corak trafik dan pantulan gelombang daripada bangunan atau struktur sekeliling (Wei *et al.* 2024). Pengukuran lapangan juga menunjukkan bahawa ketumpatan kuasa persekitaran lazimnya menurun dengan pertambahan jarak,

walaupun superposisi pantulan boleh menghasilkan variasi setempat dalam persekitaran bandar yang padat (Aerts, Wiart & Bolte 2024; Wei *et al.* 2024).

Penggunaan sel kecil atau femtosel dalam sesetengah senario tidak semestinya meningkatkan jumlah pendedahan kepada pengguna kerana pengurangan jarak antara peranti dan stesen pangkalan boleh menurunkan kuasa pancaran sambungan ke atas (*uplink*) telefon mudah alih (Aerts *et al.* 2014). Dalam persekitaran pejabat bagi teknologi UMTS, jumlah pendedahan dilaporkan boleh dikurangkan sebanyak 20 hingga 40 kali dengan penggunaan femtosel terutamanya disebabkan pengurangan kuasa keluaran telefon bimbit (Aerts *et al.* 2014). Selain itu, kajian melibatkan kereta api dengan teknologi GSM 1800 MHz yang mempunyai sambungan kepada small cell dilaporkan dapat mengurangkan pendedahan otak sebanyak 35 kali dan pendedahan seluruh badan sebanyak 11 kali berbanding sambungan kepada rangkaian makrosel (Aerts *et al.* 2015).

Dalam rangkaian 5G New Radio (NR) yang menggunakan sistem antena termaju dan pembentukan alur isyarat, pendedahan menjadi berubah mengikut ruang dan masa kerana medan tidak dipancarkan secara seragam ke seluruh sektor pada setiap masa (Aerts *et al.* 2023). Pengukuran berhampiran dua tapak sel kecil 5G NR menunjukkan bahawa nisbah pendedahan maksimum yang dianggarkan masih berada di bawah had ICNIRP iaitu 0.15 W kg^{-1} bagi pekerja pada jarak 0.5 m dan 0.68 W kg^{-1} bagi orang awam pada jarak 1.3 m (Aerts *et al.* 2023). Bagi bukan pengguna, tahap pendedahan juga boleh menjadi 5 hingga 30 kali lebih rendah bergantung pada aktiviti pengguna lain dan keupayaan pembentukan alur isyarat oleh stesen pangkalan (Aerts *et al.* 2023). Oleh itu, penilaian pendedahan bagi rangkaian 5G yang lebih padat perlu mengambil kira arah pancaran, antena pengimbas jarak, corak trafik, dan kitaran spatiotemporal, bukannya hanya bilangan antena semata-mata (Aerts *et al.* 2023). Bagi frekuensi yang lebih tinggi khususnya melebihi 6 GHz, penilaian pendedahan juga perlu mempertimbangkan metrik dosimetri permukaan yang lebih sesuai dengan kenaikan suhu setempat (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020).

2.18 KEBIMBANGAN KESIHATAN AWAM TERHADAP PENDEDAHAN 5G

Peningkatan penggunaan teknologi 5G telah mencetuskan kebimbangan kesihatan awam berkaitan pendedahan kepada RF-EMF kerana teknologi ini melibatkan penggunaan spektrum frekuensi yang lebih luas, pembentukan alur isyarat, sistem antena berbilang elemen dan penempatan infrastruktur yang lebih padat dalam sesetengah persekitaran (Bonato *et al.* 2022b; Bushberg *et al.* 2020). Kebimbangan ini turut dipengaruhi oleh persepsi bahawa 5G boleh meningkatkan jumlah pendedahan persekitaran berbanding generasi telekomunikasi terdahulu. Walau bagaimanapun, tahap pendedahan sebenar tidak ditentukan oleh bilangan antena semata-mata, sebaliknya bergantung kepada seni bina rangkaian, corak trafik, kuasa pancaran, arah alur isyarat, jarak pengguna daripada sumber dan penggunaan peranti mudah alih itu sendiri (Aerts *et al.* 2023; Bonato *et al.* 2022b).

Dari sudut perlindungan kesihatan, garis panduan antarabangsa seperti ICNIRP dan IEEE menetapkan had pendedahan RF-EMF berdasarkan kesan buruk yang telah dibuktikan khususnya kesan haba akibat penyerapan tenaga elektromagnetik oleh tisu (Bushberg *et al.* 2020; ICNIRP 2020). Bagi frekuensi melebihi 6 GHz, pemendapan tenaga menjadi lebih tertumpu pada permukaan tisu menyebabkan penilaian dosimetri lebih tertumpu kepada metrik permukaan seperti ketumpatan kuasa terserap, di mana ia lebih sesuai untuk menilai pemanasan setempat pada tisu cetek (Hirata & Kodera 2020; Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Oleh itu, perbincangan keselamatan 5G perlu membezakan antara frekuensi jalur pertengahan yang boleh menembusi tisu dengan lebih meluas dan gelombang milimeter yang lebih tertumpu pada lapisan permukaan.

Walaupun garis panduan semasa memberi asas perlindungan terhadap kesan haba yang telah dikenal pasti, sebahagian perbincangan saintifik masih tertumpu kepada kemungkinan kesan bukan haba dan implikasi pendedahan jangka panjang. Kenyataan teknikal IEEE COMAR menyatakan bahawa bukti semasa tidak menyokong kesimpulan bahawa pendedahan RF di bawah had garis panduan menyebabkan kesan kesihatan buruk, tetapi pada masa yang sama mengiktiraf keperluan kajian berkualiti tinggi yang menilai kesan biologi gelombang milimeter dan keadaan pendedahan 5G dengan lebih terperinci (Bushberg *et al.* 2020). Sebaliknya, sebahagian kajian

menganggap bahawa pendekatan penilaian pendedahan bagi gelombang milimeter masih perlu diperhalusi khususnya berkaitan pemendapan tenaga permukaan, denyutan singkat dan potensi kesan biologi yang belum difahami sepenuhnya (Redmayne & Maisch 2023). Oleh itu, isu keselamatan 5G lebih sesuai dibincangkan sebagai bidang yang memerlukan pemantauan dan penyelidikan berterusan, bukan sebagai isu yang telah selesai sepenuhnya atau sebagai bukti bahaya yang muktamad.

Kebimbangan awam terhadap 5G juga dipengaruhi oleh konteks sejarah penilaian risiko RF-EMF. Pada tahun 2011, Agensi Antarabangsa untuk Penyelidikan Kanser (IARC) mengklasifikasikan RF-EMF sebagai “mungkin karsinogen kepada manusia” dalam Kumpulan 2B berdasarkan bukti terhad berkaitan glioma dan neuroma akustik yang dikaitkan dengan penggunaan telefon tanpa wayar (IARC 2011). Walaupun klasifikasi ini tidak khusus kepada 5G, ia masih sering dirujuk dalam perbincangan awam tentang keselamatan teknologi komunikasi tanpa wayar (Simkó & Mattsson 2019; Weller & McCredden 2024).

Selain bukti biologi dan dosimetri, persepsi risiko dalam kalangan masyarakat turut dibentuk oleh tahap kepercayaan terhadap institusi, dasar kerajaan, industri telekomunikasi dan cara maklumat risiko disampaikan. Kajian tentang persepsi risiko EMF menunjukkan bahawa tahap kepercayaan terhadap dasar kerajaan boleh mempengaruhi persepsi risiko dan respons masyarakat terhadap sumber EMF awam seperti stesen pangkalan telekomunikasi (Van Dongen *et al.* 2013). Dalam konteks 5G, analisis naratif awam menunjukkan bahawa wacana keselamatan 5G dibentuk oleh pelbagai pihak, termasuk saintis, penggubal dasar, industri, aktivis dan media, lalu menghasilkan ruang komunikasi risiko yang kompleks dan kadangkala bercanggah (De Vocht & Albers 2022; Weller & McCredden 2024). Kajian sikap pengguna yang lebih baharu turut menunjukkan bahawa kebimbangan terhadap kesan kesihatan, kekurangan maklumat dan kekurangan persepsi manfaat boleh menyumbang kepada keraguan pengguna terhadap 5G. Dapatan ini menekankan bahawa penerimaan sosial terhadap 5G memerlukan komunikasi risiko yang telus, pendidikan awam yang berasaskan bukti dan pembinaan kepercayaan terhadap teknologi serta institusi yang mengawalnya (Eisinger Balassa, Nagy & Gyurián 2024).

Secara keseluruhannya, kebimbangan kesihatan awam terhadap 5G berpunca daripada gabungan faktor dosimetri, perubahan teknologi, ketidakpastian saintifik, sejarah klasifikasi risiko RF-EMF dan isu kepercayaan terhadap institusi yang mengawal pendedahan. Penilaian semasa umumnya menunjukkan bahawa pendedahan daripada infrastruktur 5G lazimnya berada di bawah had antarabangsa apabila sistem mematuhi garis panduan yang ditetapkan (Bonato *et al.* 2022b; Bushberg *et al.* 2020; ICNIRP 2020). Walau bagaimanapun, penyelidikan berterusan, pemantauan pendedahan sebenar dan komunikasi risiko yang telus masih diperlukan, khususnya bagi menjelaskan implikasi jangka panjang pendedahan kepada frekuensi yang lebih tinggi dan teknologi pembentukan alur isyarat dalam persekitaran sebenar.

Pemantauan dan mitigasi potensi risiko pendedahan RF-EMF dalam era 5G tidak seharusnya bergantung kepada had pendedahan teknikal semata-mata, tetapi perlu melibatkan pendekatan bersepadu yang merangkumi pemantauan saintifik, pengawalseliaan kerajaan dan komunikasi risiko kepada masyarakat. Dari sudut teknikal, tahap pendedahan RF-EMF perlu dipantau melalui pengukuran persekitaran, penilaian pematuhan dan semakan berterusan terhadap bukti saintifik serta standard keselamatan semasa (ICNIRP 2020; WHO 2020). Dari sudut polisi, kerajaan dan agensi berkaitan berperanan memastikan pelaksanaan rangkaian mematuhi piawaian pendedahan, memperkukuhkan peraturan teknikal, prosedur pemantauan dan mekanisme pengendalian aduan berkaitan EMF (MCMC 2019). Selain itu, peningkatan kesedaran masyarakat melalui penyampaian maklumat yang telus, berasaskan bukti dan mudah difahami penting bagi mengurangkan salah faham, menangani maklumat tidak tepat dan meningkatkan kepercayaan masyarakat terhadap pengurusan risiko RF-EMF (Eisinger Balassa, Nagy & Gyurián 2024; Van Dongen *et al.* 2013; WHO 2002). Pendekatan yang melibatkan saintis, pengawal selia, industri dan masyarakat dapat menyokong penggunaan teknologi komunikasi tanpa wayar yang lebih bertanggungjawab serta memastikan isu keselamatan dinilai secara berterusan seiring perkembangan teknologi.

2.19 KESAN RF-EMF TERHADAP KESIHATAN REPRODUKTIF LELAKI

Pendedahan kepada RF-EMF daripada telefon bimbit, Wi-Fi, komputer riba dan pemancar telekomunikasi telah menimbulkan kebimbangan terhadap potensi kesannya terhadap kesihatan reproduktif lelaki (Cordelli *et al.* 2024; Houston *et al.* 2016; Jaffar *et al.* 2019). Secara umum, bukti semasa menunjukkan bahawa RF-EMF berpotensi mempengaruhi fungsi reproduktif lelaki melalui perubahan pada kualiti sperma, struktur tisu testis, keseimbangan hormon pembiakan dan hasil kesuburan. Walau bagaimanapun, dapatan yang dilaporkan masih tidak konsisten antara kajian kerana perbezaan frekuensi, dosimetri, tempoh pendedahan, jarak sumber, kawalan suhu dan model eksperimen yang digunakan (Cordelli *et al.* 2024; Houston *et al.* 2016; Kenny *et al.* 2024).

Bukti daripada kajian *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahawa pendedahan kepada RF-EMF boleh dikaitkan dengan perubahan pada motiliti, daya hidup, kepekatan dan integriti DNA sperma. Dalam kajian spermatozoa manusia *in vitro*, pendedahan kepada RF-EMF dalam julat telefon bimbit dilaporkan meningkatkan penghasilan spesies oksigen reaktif mitokondria, menurunkan motiliti dan daya hidup sperma, serta meningkatkan pembentukan aduk DNA dan fragmentasi DNA (De Iuliis *et al.* 2009). Ulasan yang lebih terkini turut menunjukkan bahawa hubungan antara pendedahan telefon bimbit, tekanan oksidatif, fragmentasi DNA dan penurunan kualiti sperma masih dilaporkan, tetapi kekuatan bukti dipengaruhi oleh keseragaman reka bentuk kajian dan penilaian pendedahan (Koohestanidehaghi *et al.* 2024; Sciorio, Tramontano & Esteves 2022).

Kajian *in vivo* pula menunjukkan bahawa RF-EMF boleh dikaitkan dengan perubahan struktur testis dalam keadaan pendedahan tertentu. Perubahan yang pernah dilaporkan termasuk pengurangan diameter tubul seminiferus, pengurangan ketebalan epitelium germinal, perubahan ruang interstisial, gangguan pada sel Leydig dan perubahan histopatologi lain yang berpotensi menjejaskan spermatogenesis (Assefa & Abdu 2025; Demirbağ *et al.* 2023; Yavas *et al.* 2024). Walau bagaimanapun, dapatan struktur ini tidak berlaku secara seragam dalam semua kajian kerana kesannya sangat bergantung kepada frekuensi, tahap pendedahan, tempoh dedahan dan kawalan

dosimetri. Oleh itu, perubahan histologi testis selepas pendedahan RF-EMF perlu ditafsir bersama titik akhir lain seperti tekanan oksidatif, hormon reproduktif, apoptosis dan parameter sperma.

Dari sudut endokrin, beberapa kajian menunjukkan bahawa RF-EMF boleh mempengaruhi hormon reproduktif lelaki, terutamanya testosteron. Ulasan sistematik berkaitan pendedahan RF-EMF daripada telefon bimbit dan Wi-Fi melaporkan bahawa penurunan testosteron lebih kerap diperhatikan, manakala kesan terhadap hormon perangsang folikel (FSH) dan hormon peluteinan (LH) masih tidak konsisten (Maluin *et al.* 2021). Kajian haiwan terdahulu juga melaporkan peningkatan FSH dan LH bersama penurunan testosteron selepas pendedahan 900 MHz selama 30 hari, tetapi kajian ini perlu ditafsir sebagai bukti sokongan kerana ia menggunakan frekuensi dan konfigurasi pendedahan yang berbeza daripada aplikasi 5G semasa (Sepehrimanesh *et al.* 2014). Kajian pada frekuensi yang lebih tinggi turut menunjukkan bahawa kesan terhadap hormon dan kualiti sperma tidak semestinya seragam, sekali gus menekankan kepentingan dosimetri dan reka bentuk pendedahan yang lebih terkawal (Xue *et al.* 2023).

Selain parameter sperma dan hormon, beberapa kajian turut menilai kesan RF-EMF terhadap keupayaan fungsi sperma dan hasil reproduktif. Pendedahan 900 MHz dilaporkan boleh mengurangkan keupayaan sperma manusia untuk berinteraksi dengan zona pelusida dalam keadaan *in vitro*, walaupun kesan terhadap tindak balas akrosom tidak semestinya jelas (Falzone *et al.* 2011). Kajian haiwan yang lebih baharu pula menunjukkan bahawa pendedahan RF-EMF bapa tidak semestinya mengubah semua parameter sperma atau kadar kesuburan secara langsung, tetapi masih boleh dikaitkan dengan perubahan tertentu pada trajektori berat badan dan metabolisme glukosa anak dalam model tikus (Yan *et al.* 2022). Dapatan ini menunjukkan bahawa penilaian kesihatan reproduktif lelaki tidak wajar bergantung kepada satu parameter sahaja, sebaliknya perlu merangkumi kualiti sperma, fungsi sperma, keadaan testis, hormon reproduktif dan hasil reproduktif.

2.20 KAJIAN *IN VITRO* DAN *IN VIVO* TERHADAP KUALITI SPERMA

Kesan RF-EMF terhadap kualiti sperma telah dikaji melalui dua pendekatan utama, iaitu kajian *in vitro* dan kajian *in vivo*. Kajian *in vitro* menilai kesan langsung pendedahan RF-EMF terhadap spermatozoa yang telah dikumpulkan di luar tubuh, manakala kajian *in vivo* menilai perubahan yang berlaku dalam organisma utuh dan oleh itu turut melibatkan faktor testis, epididimis, hormon dan homeostasis sistemik. Kedua-dua pendekatan ini saling melengkapi dalam memahami bagaimana RF-EMF boleh mempengaruhi fungsi reproduktif lelaki walaupun tafsiran dapatan masih dipengaruhi oleh perbezaan frekuensi, dosimetri, tempoh pendedahan, dan reka bentuk eksperimen (Cordelli *et al.* 2024).

2.20.1 Kajian *in vitro*

Kajian *in vitro* membolehkan kesan langsung RF-EMF terhadap spermatozoa dinilai di luar pengaruh sistemik organisma hidup. Secara umum, kajian jenis ini menunjukkan bahawa spermatozoa boleh mengalami perubahan fungsi selepas pendedahan terus kepada RF-EMF, terutamanya pada motiliti, daya hidup dan integriti DNA. Walau bagaimanapun, dapatan antara kajian tidak seragam kerana perbezaan spesies, sumber pendedahan, frekuensi, tempoh pendedahan, jarak sumber, sistem kawalan suhu dan kaedah penilaian sperma (Cordelli *et al.* 2024).

Dalam kajian klasik terhadap spermatozoa manusia, pendedahan kepada RF-EMF pada julat frekuensi telefon bimbit dilaporkan menurunkan motiliti dan daya hidup sperma, serta meningkatkan penanda kerosakan DNA spermatozoa (De Iuliis *et al.* 2009). Dapatan ini mencadangkan bahawa pendedahan RF-EMF berpotensi mempengaruhi fungsi spermatozoa secara langsung, walaupun tafsirannya perlu dibuat secara berhati-hati kerana keadaan pendedahan *in vitro* tidak semestinya mewakili keadaan biologi dalam organisma hidup. Kajian yang lebih terkini menggunakan telefon pintar moden menunjukkan bahawa pendedahan melalui spektrum Wi-Fi boleh menurunkan motiliti dan daya hidup sperma manusia secara *in vitro*, manakala pendedahan melalui 4G dan 5G tidak menunjukkan kesan yang sama dalam keadaan eksperimen tersebut (Chu *et al.* 2023). Dapatan ini menunjukkan bahawa kesan RF-

EMF terhadap sperma mungkin bergantung kepada spektrum, konfigurasi pendedahan dan keadaan eksperimen yang digunakan.

Selain itu, kajian terhadap semen babi hutan ternakan yang didedahkan secara *in vitro* kepada frekuensi 700, 2500 dan 3500 MHz menunjukkan peningkatan fragmentasi DNA dengan kesan lebih ketara dilaporkan pada frekuensi 3500 MHz (Butković *et al.* 2024). Kajian ini penting kerana ia melibatkan frekuensi yang lebih hampir dengan aplikasi komunikasi moden, namun tafsirannya masih perlu berhati-hati kerana ia menggunakan model semen haiwan dan pendedahan di luar tubuh. Secara keseluruhannya, kajian *in vitro* berguna untuk menunjukkan kemungkinan kesan langsung RF-EMF terhadap spermatozoa khususnya melalui perubahan motiliti, daya hidup dan integriti DNA.

2.20.2 Kajian *in vivo*

Kajian *in vivo* memberikan gambaran yang lebih menyeluruh tentang kesan RF-EMF terhadap kualiti sperma kerana penilaian dilakukan dalam organisma hidup. Pendekatan ini membolehkan pengaruh testis, epididimis, hormon pembiakan, keradangan, tekanan oksidatif dan homeostasis sistemik diambil kira secara serentak. Oleh itu, kajian *in vivo* lebih hampir kepada keadaan biologi sebenar berbanding kajian *in vitro*, walaupun tafsirannya masih dipengaruhi oleh perbezaan frekuensi, intensiti pendedahan, tempoh pendedahan, dosimetri, model haiwan dan titik akhir yang dinilai (Cordelli *et al.* 2024).

Dalam model tikus, kajian awal menunjukkan bahawa pendedahan kepada RF-EMF daripada telefon mudah alih GSM 0.9 dan 1.8 GHz selama 28 hari boleh menurunkan motiliti sperma, walaupun tidak semua parameter reproduktif menunjukkan perubahan yang seragam (Mailankot *et al.* 2009). Dapatan ini mencadangkan bahawa pendedahan RF-EMF berpotensi mempengaruhi fungsi reproduktif lelaki dan menjadi asas kepada penyelidikan lanjutan yang menilai kesannya terhadap sistem reproduktif lelaki.

Kajian haiwan yang lebih baharu menunjukkan bahawa tempoh pendedahan merupakan faktor penting dalam menentukan magnitud tindak balas biologi. Pendedahan 2.45 GHz Wi-Fi selama lapan minggu dalam tikus Sprague Dawley

dilaporkan mempengaruhi parameter sperma dan histopatologi testis secara bergantung kepada tempoh dedahan harian, dengan perubahan yang melibatkan kualiti sperma dan struktur tisu testis (Jamaludin *et al.* 2025). Dalam kajian lain yang turut menggunakan pendedahan 2.45 GHz Wi-Fi selama lapan minggu, tikus Sprague Dawley yang terdedah selama 4 atau 24 jam sehari menunjukkan perubahan histologi pada organ reproduktif lelaki, termasuk vakuolisasi testis dan corpus epididymis, hiperplasia atipikal multifokal vesikel seminal, penurunan diameter tubul seminiferus pada kumpulan 24 jam, serta penurunan indeks spermatogenesis pada kedua-dua kumpulan terdedah (Vijay *et al.* 2025). Perubahan ini turut disertai dengan penurunan kepekatan sperma pada kedua-dua kumpulan terdedah dan penurunan motiliti sperma pada kumpulan 4 jam, walaupun daya hidup sperma meningkat dalam kumpulan 24 jam (Vijay *et al.* 2025). Dapatan ini menunjukkan bahawa kesan pendedahan Wi-Fi terhadap sistem reproduktif lelaki tidak semestinya meningkat secara linear mengikut tempoh pendedahan, sebaliknya mungkin dipengaruhi oleh perbezaan tindak balas tisu, perubahan pampasan epididymis atau variasi titik akhir yang dinilai. Oleh itu, kajian *in vivo* berfrekuensi 2.45 GHz menyokong keperluan untuk menilai kualiti sperma bersama perubahan histologi dan histomorfometri testis supaya tafsiran kesan RF-EMF terhadap fungsi reproduktif lelaki menjadi lebih menyeluruh (Jamaludin *et al.* 2025; Vijay *et al.* 2025).

Walau bagaimanapun, tidak semua kajian *in vivo* pada frekuensi yang lebih tinggi menunjukkan kesan yang jelas terhadap sistem reproduktif lelaki. Pendedahan 5.8 GHz selama 30 hari dalam tikus dewasa dilaporkan tidak menyebabkan perubahan signifikan pada kiraan sperma, keabnormalan sperma, morfologi testis, testosteron, FSH, LH atau caspase-3 dalam keadaan eksperimen tersebut (Xue *et al.* 2022). Dapatan ini menunjukkan bahawa kesan RF-EMF terhadap testis dan kualiti sperma masih tidak seragam dan sangat bergantung kepada konfigurasi pendedahan, tempoh dedahan, kuasa pendedahan, pemantauan suhu, titik akhir yang dipilih dan takrifan dosimetri.

Secara keseluruhannya, bukti *in vivo* menunjukkan bahawa RF-EMF berpotensi mempengaruhi kualiti sperma dan tisu testis khususnya melalui perubahan pada motiliti, kepekatan sperma, daya hidup sperma, spermatogenesis, histopatologi testis dan dalam sesetengah keadaan fungsi hormon.

2.21 KECEDEeraan TESTIS SELEPAS PENDEDAHAN RF-EMF DALAM MODEL HAIWAN

Dalam model haiwan, pendedahan kepada RF-EMF telah dilaporkan boleh menyebabkan kecederaan testis, walaupun magnitud dan konsistensi kesan berbeza antara kajian bergantung kepada frekuensi, dosimetri, tempoh pendedahan dan reka bentuk eksperimen yang digunakan (Assefa & Abdu 2025; Cordelli *et al.* 2024). Dalam kajian haiwan, kecederaan testis lazimnya dinilai melalui perubahan histopatologi yang melibatkan struktur utama dalam tisu testis termasuk tubul seminiferus, epitelium germinal, ruang interstisial, serta sel somatik seperti sel Leydig dan sel Sertoli (Assefa & Abdu 2025; Odaci & Özyilmaz 2015). Antara perubahan yang kerap dilaporkan ialah pembentukan vakuol pada tubul seminiferus, edema ruang intertubular, penurunan diameter tubul seminiferus, dan pengurangan ketebalan epitelium germinal selepas pendedahan RF-EMF (Assefa & Abdu 2025; Odaci & Özyilmaz 2015). Sebagai contoh, pendedahan 900 MHz selama 1 jam sehari selama 30 hari dalam tikus dewasa dilaporkan menyebabkan vakuol pada membran basal tubul, edema intertubular, penurunan diameter tubul seminiferus, penurunan ketebalan epitelium germinal dan peningkatan indeks apoptosis (Odaci *et al.* 2016). Begitu juga, kajian pada 2.45 GHz telah melaporkan bahawa pendedahan RF-EMF boleh menyebabkan kerosakan tubul seminiferus dan pengurangan bilangan sel Leydig dalam testis tikus (Saygin *et al.* 2011). Dalam model pendedahan pranalatal 2.45 GHz, perubahan lain yang turut dilaporkan termasuk bentuk tubul seminiferus yang tidak teratur, degenerasi dan deskuamasi sel germinal, peningkatan ruang interstisial, kehadiran vakuol dalam sel somatik dan sel germinal, ruang kosong antara sel Sertoli dan sel germinal, serta peningkatan lipid droplet dalam sel Leydig (Almášiová *et al.* 2021). Perubahan pada sel Leydig dan sel Sertoli adalah penting kerana kedua-dua jenis sel ini berperanan dalam mengekalkan mikro-persekitaran testis, menyokong spermatogenesis dan mengawal fungsi endokrin reproduktif. Oleh itu, gangguan pada kedua-dua populasi sel ini boleh menyumbang kepada kemerosotan fungsi spermatogenik dan seterusnya menjejaskan kualiti sperma (Almášiová *et al.* 2021; Saygin *et al.* 2011).

Dari sudut mekanisme, beberapa kajian haiwan menunjukkan bahawa kecederaan testis akibat RF-EMF sering berlaku seiring dengan peningkatan tekanan oksidatif, perubahan sistem antioksidan dan pengaktifan apoptosis (Odaci & Özyilmaz

2015; Oyewopo *et al.* 2017). Sebagai contoh, pendedahan kronik kepada radiasi telefon bimbit dalam tikus Wistar dilaporkan berkait dengan peningkatan malondialdehid, penurunan superoksida dismutase, perubahan histomorfometri testis dan penurunan profil hormon gonadotropik (Oyewopo *et al.* 2017). Dapatan ini menyokong pandangan bahawa kecederaan testis dalam model haiwan bukan sekadar perubahan morfologi terencil, tetapi sebahagian daripada tindak balas biologi yang melibatkan tekanan oksidatif, apoptosis dan gangguan homeostasis hormon (Cordelli *et al.* 2024; Oyewopo *et al.* 2017). Walau bagaimanapun, tafsiran keseluruhan terhadap bukti haiwan perlu dibuat dengan berhati-hati. Ulasan sistematik terkini menyimpulkan bahawa RF-EMF mungkin mempengaruhi tisu testis dan kualiti sperma dalam haiwan, tetapi tahap kepastian bukti masih dilemahkan oleh risiko bias, ketidakseragaman protokol pendedahan, dan variasi dalam penilaian titik akhir histopatologi (Assefa & Abdu 2025; Cordelli *et al.* 2024).

Secara keseluruhannya, kajian-kajian haiwan yang lepas menunjukkan bahawa pendedahan RF-EMF berpotensi dikaitkan dengan kecederaan testis melalui perubahan histopatologi, gangguan pada sel somatik testis, peningkatan tekanan oksidatif dan pengaktifan apoptosis. Namun demikian, hubungan antara corak kecederaan tersebut dengan frekuensi, intensiti, dan tempoh pendedahan masih memerlukan kajian yang lebih standard dan berasaskan dosimetri yang jelas.

2.22 TINDAK BALAS MOLEKUL DAN SELULAR TERHADAP RF-EMF

Pendedahan kepada RF-EMF dilaporkan boleh mencetuskan pelbagai tindak balas molekul dan selular dalam sistem reproduktif lelaki termasuk tekanan oksidatif, kerosakan biomolekul, gangguan isyarat keradangan, perubahan protein tindak balas tekanan dan pengaktifan laluan apoptosis. Walau bagaimanapun, kekuatan dan arah tindak balas ini tidak sentiasa seragam antara kajian kerana ia dipengaruhi oleh frekuensi, intensiti, tempoh pendedahan, model biologi, dan kejelasan dosimetri yang digunakan (Cordelli *et al.* 2024; Meyer *et al.* 2024).

Salah satu mekanisme yang paling kerap dibincangkan ialah tekanan oksidatif. Peningkatan spesies oksigen reaktif boleh menyebabkan peroksidasi lipid,

pengoksidan protein, dan kerusakan DNA, lalu menjejaskan integriti membran dan fungsi sel dalam testis dan spermatozoa. Beberapa kajian eksperimen turut melaporkan bahawa pendedahan RF-EMF boleh meningkatkan penanda tekanan oksidatif dalam sistem reproduktif lelaki, walaupun tahap kepastian bukti keseluruhan bagi penanda bio (*biomarker*) ini masih rendah dan tidak sepenuhnya konsisten merentas kajian (Cordelli *et al.* 2024; De Iuliis *et al.* 2009; Meyer *et al.* 2024).

Tambahan lagi, RF-EMF juga dikaitkan dengan pengaktifan laluan apoptosis. Dalam model reproduktif lelaki, perubahan pada ekspresi penanda apoptosis seperti peningkatan Bax dan caspase-3 serta penurunan Bcl-2 telah dilaporkan selepas pendedahan tertentu. Dapatan ini menunjukkan bahawa ketidakseimbangan antara isyarat pro-apoptotik dan anti-apoptotik boleh menyumbang kepada kehilangan sel germinal dan gangguan spermatogenesis (Liu *et al.* 2015; Saygin *et al.* 2011). Di samping itu, penglibatan mitokondria dalam laluan apoptosis, termasuk pelepasan sitokrom c dan peningkatan tekanan oksidatif menyokong pandangan bahawa kecederaan sel akibat RF-EMF boleh berlaku melalui gangguan homeostasis tenaga dan redoks selular (Liu *et al.* 2015).

Tindak balas keradangan juga telah dicadangkan sebagai sebahagian daripada respons selular terhadap RF-EMF. Kajian pada sel Sertoli menunjukkan bahawa pendedahan gelombang mikro boleh meningkatkan pengeluaran sitokin tertentu dan seterusnya mengganggu mikro-persekitaran yang diperlukan untuk spermatogenesis normal. Dalam konteks ini, perubahan mediator keradangan dan isyarat antara sel somatik testis dan sel germinal berpotensi menyumbang kepada kecederaan testis secara tidak langsung melalui gangguan keistimewaan imun dan homeostasis tisu (Wu *et al.* 2018; Wu *et al.* 2012).

Di samping laluan oksidatif, apoptosis dan keradangan, beberapa kajian proteomik dan kajian tindak balas tekanan turut menunjukkan bahawa RF-EMF boleh memodulasi protein yang terlibat dalam proteostasis dan adaptasi selular. Perubahan ini tidak semestinya menunjukkan kerosakan yang tidak dapat dipulihkan, tetapi boleh mencerminkan respons penyesuaian awal terhadap tekanan sel. Oleh itu, tafsiran terhadap perubahan molekul dan selular akibat RF-EMF perlu dibuat secara berhati-hati

dan sebaiknya dinilai bersama titik akhir fungsi seperti kualiti sperma dan perubahan tisu testis (Cordelli *et al.* 2024; Sepehrimanesh *et al.* 2014).

2.23 KESAN RF-EMF TERHADAP HSP DALAM TESTIS

2.23.1 Peranan HSP di dalam Testis

Protein kejutan haba (*heat shock proteins*, HSP) ialah kumpulan protein pengiring molekul yang sangat terpelihara secara evolusi dan berfungsi mengekalkan homeostasis protein, terutamanya apabila sel berdepan tekanan haba, oksidatif atau proteotoksik (Gu, Fan & Yu 2023; Schopf, Biebl & Buchner 2017). Dalam sistem reproduktif lelaki, HSP terlibat dalam spermatogenesis, pematangan sel germinal, perlindungan terhadap stres selular dan pengawalan kelangsungan hidup sel germinal (Purandhar *et al.* 2014; Rosyada *et al.* 2022). HSP70, khususnya HSP70-2, telah dikaitkan dengan perkembangan meiosis dan fungsi sperma, manakala HSP90 berperanan dalam proteostasis serta penstabilan protein klien yang penting untuk pembezaan spermatid (Eddy 1999; Rosyada *et al.* 2022; Schopf, Biebl & Buchner 2017). Bagi HSP27, kajian langsung pada testis manusia menunjukkan bahawa ekspresinya berbeza antara spermatogenesis normal dan abnormal, sekali gus menyokong peranannya dalam homeostasis testis dan patogenesis ketidaksuburan lelaki (Adly, Assaf & Hussein 2008).

2.23.2 Kesan RF-EMF Terhadap HSP90 dalam Testis

Kajian mengenai perubahan HSP90 dalam testis selepas pendedahan RF-EMF masih sangat terhad. Setakat yang dapat dikenal pasti, bukti langsung yang menilai HSP90 dalam tisu testis selepas pendedahan RF-EMF masih belum mencukupi untuk membentuk kesimpulan yang kukuh. Walau bagaimanapun, HSP90 kekal relevan dalam konteks testis kerana protein ini terlibat dalam proteostasis, tindak balas tekanan selular dan pengawalan fungsi sel semasa spermatogenesis. Kajian terhadap tisu testis haiwan menunjukkan bahawa HSP70 dan HSP90 diekspresikan dalam sel spermatogenik, di mana ia dikaitkan dengan perkembangan testis dan pengawalan spermatogenesis (Cui *et al.* 2022).

Walaupun bukti langsung dalam testis masih terhad, kajian pada tisu bukan reproduktif menunjukkan bahawa pendedahan RF-EMF boleh memodulasi HSP90 dalam keadaan eksperimen tertentu. Sebagai contoh, pendedahan 2.45 GHz pada model tiroid tikus telah dilaporkan mempengaruhi ekspresi HSP90 dalam sel parafolikular yang positif terhadap kalsitonin (López-Martín *et al.* 2021). Dapatan ini menunjukkan bahawa HSP90 berpotensi bertindak sebagai penanda tindak balas tekanan selular selepas pendedahan RF-EMF, tetapi dapatan daripada tisu tiroid tidak boleh diterjemahkan secara langsung kepada testis kerana perbezaan jenis tisu, fungsi fisiologi dan keadaan pendedahan.

Dalam kajian proteom testis, pendedahan 900 MHz RF-EMF selama 30 hari dilaporkan mengubah profil protein testis tikus, termasuk protein kejutan haba dan protein berkaitan tekanan selular (Sepehrimanesh *et al.* 2014). Oleh itu, dalam konteks testis, HSP90 lebih sesuai ditafsir sebagai penanda tekanan selular yang berpotensi dipengaruhi oleh RF-EMF, bukan sebagai penanda yang telah dibuktikan secara konsisten dalam semua keadaan pendedahan. Tafsiran terhadap perubahan HSP90 perlu dibuat bersama maklumat dosimetri, tempoh pendedahan, kawalan suhu dan titik akhir biologi lain seperti apoptosis, sitokin radang dan kualiti sperma.

2.23.3 Kesan RF-EMF Terhadap HSP70 dalam Testis

Kajian lepas mengenai HSP70 dalam testis selepas pendedahan RF-EMF lebih jelas berbanding HSP90 tetapi bukti yang tersedia masih terhad dan tidak konsisten. Satu kajian *in vivo* melaporkan bahawa pendedahan serentak kepada isyarat CDMA dan WCDMA pada jumlah SAR 4 W kg^{-1} selama 12 minggu tidak menyebabkan perubahan signifikan pada HSP70 dalam testis tikus (Lee *et al.* 2012). Dapatan ini menunjukkan bahawa pendedahan RF-EMF tidak semestinya mendorong peningkatan HSP70 dalam testis di bawah semua keadaan eksperimen.

Sebaliknya, kajian proteom testis tikus Sprague Dawley selepas pendedahan 900 MHz RF-EMF selama 1, 2 atau 4 jam sehari selama 30 hari menunjukkan perubahan profil protein testis yang melibatkan protein berkaitan tekanan selular. Dalam kajian tersebut, HSP65, HSP73 dan HSP70.2 dikenal pasti dalam kumpulan terdedah,

termasuk protein lain yang berkaitan dengan tekanan selular, pelipatan protein dan pertahanan antioksidan seperti peroxiredoxin-1 dan superoxide dismutase (Sepehrimanesh *et al.* 2014). Dapatan ini menyokong kemungkinan bahawa pendedahan RF-EMF boleh mencetuskan tindak balas proteostasis dan tekanan selular dalam testis, walaupun kajian tersebut bersifat proteomik awal dan memerlukan pengesahan lanjut melalui pendekatan kajian biologi bersepadu.

Walaupun bagaimanapun, HSP70 tetap penting dalam biologi testis kerana protein ini berfungsi sebagai pengiring molekul yang membantu mengekalkan homeostasis protein dan melindungi sel daripada tekanan proteotoksik. Dalam sistem reproduktif lelaki, HSP70-2 telah dikaitkan dengan spermatogenesis dan fungsi spermatozoa, termasuk sokongan terhadap perkembangan sel germinal dan keupayaan fungsi sperma (Rosyada *et al.* 2022). Selain itu, kajian tisu testis haiwan menunjukkan bahawa HSP70 diekspresikan dalam sel spermatogenik dan sel somatik testis di mana ini menyokong kepentingannya dalam perkembangan dan fungsi testis (Cui *et al.* 2022).

Secara keseluruhannya, perubahan HSP70 selepas pendedahan RF-EMF dalam testis perlu ditafsir secara berhati-hati. Bukti sedia ada menunjukkan dapatan yang tidak seragam, dengan kajian tertentu melaporkan tiada perubahan HSP70 yang signifikan, manakala kajian proteomik menunjukkan penglibatan protein keluarga HSP70 dalam testis selepas pendedahan RF-EMF (Lee *et al.* 2012; Sepehrimanesh *et al.* 2014). Oleh itu, HSP70 lebih sesuai dinilai sebagai sebahagian daripada panel penanda tekanan selular dan titik akhir biologi lain, bukan sebagai penanda tunggal bagi kesan RF-EMF terhadap testis.

2.23.4 Kesan RF-EMF Terhadap HSP27 dalam Testis

Kajian lepas mengenai HSP27 dalam testis selepas pendedahan RF-EMF masih sangat terhad. Walaupun demikian, ekspresi HSP27 telah dikenal pasti dalam testis manusia dan menunjukkan corak yang berbeza antara spermatogenesis normal dan abnormal, sekali gus menyokong kemungkinan peranannya dalam homeostasis testis (Adly, Assaf & Hussein 2008). Dari sudut fungsi umum, HSP27 atau HSPB1 tergolong dalam protein kejutan haba kecil yang berfungsi sebagai pengiring molekul dan terlibat dalam

pengawalan homeostasis protein, kestabilan sitoskeleton, tindak balas terhadap tekanan oksidatif dan modulasi apoptosis (Gu, Fan & Yu 2023; Singh, Sharma & Tiwari 2017).

Dalam konteks RF-EMF, bukti yang mengaitkan HSP27 dengan pendedahan medan elektromagnetik masih terhad dan banyak bergantung pada model tisu selain testis. Pendedahan 1800 MHz dalam tisu okular tikus telah dikaitkan dengan perubahan ekspresi gen berkaitan tekanan selular seperti HSP27, p38MAPK dan caspase-3, tetapi dapatan ini tidak membuktikan mekanisme yang sama berlaku dalam tisu testis (Eker *et al.* 2018). Oleh itu, penglibatan HSP27 selepas pendedahan RF-EMF adalah munasabah dari sudut biologi sel tetapi bukti spesifik pada testis masih belum mencukupi untuk membuat kesimpulan yang tegas.

2.24 KESAN RF-EMF TERHADAP SITOKIN RADANG DALAM TESTIS

Testis bukan sekadar organ reproduktif tetapi juga mempunyai persekitaran imunologi yang sangat terkawal bagi membolehkan spermatogenesis berlaku tanpa mencetuskan tindak balas autoimun terhadap antigen sel germinal. Sitokin dalam testis memainkan peranan penting dalam mengekalkan keseimbangan antara toleransi imun, pertahanan terhadap patogen dan pengawalan fungsi sel testis (Loveland *et al.* 2017). Sitokin juga mempengaruhi fungsi sel Sertoli, sel Leydig, sel germinal dan sel imun tempatan yang menyokong homeostasis testis (Hasan *et al.* 2022; Washburn *et al.* 2022).

Dalam testis normal, sitokin pro-radang seperti IL-1 β , IL-6 dan TNF- α tidak semestinya bersifat patologi semata-mata kerana sitokin ini turut terlibat dalam pengawalan fungsi fisiologi testis (Loveland *et al.* 2017). Walau bagaimanapun, peningkatan atau ketidakseimbangan sitokin pro-radang boleh mengganggu mikro-persekitaran testis, fungsi sel Sertoli, integriti penghalang darah-testis, steroidogenesis dan kelangsungan hidup sel germinal (Hasan *et al.* 2022; Xu *et al.* 2024). IL-10 pula lebih banyak dikaitkan dengan fungsi anti-radang dan imunoregulasi termasuk kawalan terhadap tindak balas keradangan yang berlebihan dalam tisu reproduktif lelaki (Hasan *et al.* 2022; Loveland *et al.* 2017). Oleh itu, keseimbangan antara sitokin pro-radang dan anti-radang penting untuk memastikan spermatogenesis berlaku dalam persekitaran imun yang stabil (Loveland *et al.* 2017; Washburn *et al.* 2022).

Peranan sel Sertoli amat penting dalam pengawalan imun testis kerana sel ini bukan sahaja membentuk penghalang darah-testis, tetapi juga bertindak sebagai pengawal imun tempatan. Sel Sertoli boleh menghasilkan faktor pengimunomodulatan, mengawal kemasukan dan tindak balas sel imun, serta ia juga menyumbang kepada persekitaran tolerogenik yang melindungi sel germinal pasca-meiosis (Washburn *et al.* 2022). Pada masa yang sama, sel Sertoli juga boleh mengaktifkan tindak balas imun semula jadi apabila berlaku jangkitan, kecederaan atau tekanan selular (Washburn & Dufour 2023; Washburn *et al.* 2022). Oleh itu, perubahan pada profil sitokin dalam testis boleh mencerminkan gangguan terhadap keseimbangan imun yang diperlukan untuk mengekalkan spermatogenesis normal (Loveland *et al.* 2017; Washburn *et al.* 2022).

Dalam konteks RF-EMF, bukti spesifik yang mengaitkan pendedahan medan elektromagnetik dengan perubahan sitokin testis masih terhad. Walau bagaimanapun, beberapa kajian menunjukkan bahawa pendedahan gelombang mikro boleh memodulasi tindak balas sitokin dalam sistem reproduktif lelaki khususnya pada sel Sertoli. Pendedahan gelombang mikro pada sel Sertoli tikus telah dikaitkan dengan peningkatan sitokin pro-radang seperti IL-1 β , IL-6 dan TNF- α (Wu *et al.* 2018). Peningkatan sitokin tersebut juga dikaitkan dengan pengaktifan laluan reseptor serupa Tol (*Toll-like receptor*; TLR) yang berpotensi menyumbang kepada gangguan spermatogenesis selepas pendedahan gelombang mikro (Wu *et al.* 2018). Dapatan ini menunjukkan bahawa perubahan sitokin mungkin menjadi salah satu mekanisme yang menghubungkan pendedahan RF-EMF dengan gangguan fungsi testis, tetapi bukti ini masih banyak bergantung kepada model sel atau model pendedahan gelombang mikro tertentu (Cordelli *et al.* 2024; Wu *et al.* 2018).

Walau bagaimanapun, dapatan berkaitan sitokin selepas pendedahan RF-EMF masih belum seragam. Sebahagian besar kajian lebih menumpukan parameter sperma, histologi testis, tekanan oksidatif atau apoptosis, manakala penilaian sitokin testis secara menyeluruh masih terhad (Cordelli *et al.* 2024). Tambahan pula, kajian yang menilai sitokin utama seperti IL-1 β , IL-6, IL-10 dan TNF- α dalam tisu testis selepas pendedahan kepada frekuensi yang relevan dengan aplikasi 5G masih belum mencukupi. Oleh itu, tafsiran terhadap perubahan sitokin akibat RF-EMF perlu dibuat dengan berhati-hati dan perlu dinilai bersama maklumat dosimetri, tekanan selular, apoptosis dan kualiti sperma (Cordelli *et al.* 2024; Xu *et al.* 2024).

2.25 KESAN RF-EMF TERHADAP APOPTOSIS DALAM TESTIS

Apoptosis ialah mekanisme fisiologi yang penting dalam testis kerana proses ini membantu mengekalkan keseimbangan antara bilangan sel germinal dan kapasiti sokongan sel Sertoli semasa spermatogenesis. Apoptosis yang dikawal dengan ketat diperlukan untuk menyingkirkan sel germinal yang rosak, berlebihan atau gagal berkembang dengan sempurna. Walau bagaimanapun, peningkatan apoptosis yang berlebihan boleh mengganggu susunan epitelium seminiferus, mengurangkan populasi sel germinal matang dan seterusnya menjejaskan potensi reproduktif lelaki (Asadi *et al.* 2021; O' Donnell, Stanton & De Kretser 2017; Print & Loveland 2000; Zakariah *et al.* 2022).

Dalam kajian testis, apoptosis lazimnya dinilai melalui gabungan penanda molekul dan histologi kerana proses ini berlaku melalui beberapa peringkat. Secara umum, laluan apoptosis boleh melibatkan tindak balas terhadap tekanan selular dan kerosakan DNA, perubahanimbangan antara faktor pro-apoptotik dan anti-apoptotik, pengaktifan caspase pelaksana serta fragmentasi DNA pada peringkat akhir. Oleh itu, penggunaan lebih daripada satu penanda apoptosis penting bagi membezakan antara perubahan awal pada laluan molekul dengan kehilangan sel yang telah berlaku pada tahap tisu (Aubrey *et al.* 2018; Li *et al.* 2024; Qian *et al.* 2022).

Dalam konteks RF-EMF, beberapa kajian haiwan menunjukkan bahawa pendedahan pada frekuensi tertentu boleh mempengaruhi apoptosis dalam tisu testis, walaupun dapatan yang dilaporkan tidak sentiasa seragam. Pendedahan gelombang mikro 2.45 GHz telah dikaitkan dengan peningkatan tekanan redoks testis dan pengaktifan penanda apoptosis seperti p53, Bax dan caspase-3, di samping penurunan penanda anti-apoptotik seperti Bcl-2 atau Bcl-xL (Shahin, Singh & Chaturvedi 2018). Pendedahan RF termodulasi denyut pada 220 MHz selama sebulan dalam tikus juga dilaporkan meningkatkan ekspresi caspase-3 terpotong dan mengubah nisbah BAX/BCL2 dalam testis, sekali gus menyokong kemungkinan pengaktifan apoptosis sel germinal selepas pendedahan RF-EMF di bawah keadaan eksperimen tertentu (Guo *et al.* 2019).

Kajian yang lebih terkini menunjukkan bahawa kesan RF-EMF terhadap testis mungkin tidak terhad kepada apoptosis klasik sahaja. Pendedahan 2100 MHz dilaporkan boleh menyebabkan tekanan retikulum endoplasma dalam testis tikus, dengan kesan yang berbeza mengikut tempoh pendedahan (Kirimlioglu *et al.* 2024). Selain itu, pendedahan 5G FR1 pada 5.9 GHz dalam tikus Sprague-Dawley dilaporkan meningkatkan tekanan oksidatif, kerosakan histopatologi testis serta penanda tekanan retikulum endoplasma seperti GRP78 dan CHOP (Yilmaz *et al.* 2025). Penemuan ini mencadangkan bahawa tekanan oksidatif, tekanan retikulum endoplasma dan apoptosis boleh saling berkait dalam tindak balas testis terhadap RF-EMF.

2.26 RUMUSAN KAJIAN LEPAS DAN JURANG PENYELIDIKAN

Walaupun banyak kajian telah menilai kesan RF-EMF terhadap sistem reproduktif lelaki, dapatan yang dilaporkan masih bercampur dan sukar dibandingkan secara langsung. Keadaan ini sebahagian besarnya berpunca daripada perbezaan frekuensi, intensiti, tempoh pendedahan, model eksperimen, serta ketidakseragaman dalam penilaian dosimetri dan titik akhir biologi yang digunakan. Ulasan sistematik terkini juga menunjukkan bahawa tahap kepastian bukti bagi banyak titik akhir reproduktif masih rendah hingga sangat rendah khususnya disebabkan kelemahan dalam pengukuran pendedahan, risiko bias dan keseragaman protokol kajian (Cordelli *et al.* 2024; Kenny *et al.* 2024).

Kebanyakan kajian terdahulu tertumpu kepada frekuensi di bawah 3 GHz seperti 900 MHz dan 2.45 GHz. Manakala, penyelidikan yang menilai frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G khususnya jalur pertengahan sekitar 3.5 GHz dan gelombang milimeter sekitar 24 GHz masih sangat terhad. Tambahan pula, banyak kajian menilai titik akhir biologi secara berasingan tanpa menghubungkan dengan jelas antara corak pemendapan tenaga elektromagnetik dan perubahan biologi yang berlaku dalam testis. Oleh itu, masih terdapat keperluan kepada kajian yang menggabungkan penilaian dosimetri dengan penanda biologi yang relevan untuk menjelaskan sama ada frekuensi yang berbeza menghasilkan corak kesan yang berbeza terhadap sistem reproduktif lelaki.

Berdasarkan kajian kepustakaan, beberapa jurang utama telah dikenal pasti. Jurang tersebut merangkumi kekurangan data pada frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G, ketiadaan pendekatan bersepadu antara simulasi dosimetri dan penilaian biologi dalam model haiwan, kekurangan reka bentuk pendedahan yang sesuai untuk membandingkan frekuensi jalur pertengahan dan gelombang milimeter, serta ketiadaan penilaian serentak terhadap beberapa penanda biologi utama seperti HSP, sitokin radang, apoptosis dan kualiti sperma.

2.26.1 Kekurangan penyelidikan pada frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G

Kebanyakan kajian terdahulu yang menilai kesan RF-EMF terhadap sistem reproduktif lelaki tertumpu kepada frekuensi yang kebiasaannya digunakan dalam teknologi komunikasi generasi terdahulu seperti jalur telefon mudah alih konvensional dan Wi-Fi 2.45 GHz. Namun, bukti bagi frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G masih jauh lebih terhad. Ulasan sistematik terkini menunjukkan bahawa bukti keseluruhan tentang kesan RF-EMF terhadap fertiliti lelaki masih tidak pasti dan banyak kajian sedia ada berbeza dari segi frekuensi, dosimetri, tempoh pendedahan dan titik akhir yang dinilai (Cordelli *et al.* 2024).

Bagi frekuensi gelombang milimeter, sorotan pragmatik menunjukkan bahawa kajian-kajian lepas bagi julat 6 hingga 100 GHz masih terhad dan tidak seragam, sekali gus menyukarkan pembentukan kesimpulan yang kukuh tentang kesan biologinya (Simkó & Mattsson 2019). Dalam konteks ini, frekuensi sekitar 24 GHz yang relevan dengan aplikasi 5G masih belum dikaji secara meluas dalam sistem reproduktif lelaki berbanding frekuensi warisan yang lebih rendah.

Bagi jalur pertengahan yang relevan kepada aplikasi 5G, frekuensi sekitar 3.5 GHz semakin digunakan dalam rangkaian komunikasi moden, namun bukti mengenai kesannya terhadap testis dan kualiti sperma masih terhad. Sebaliknya, frekuensi yang lebih rendah telah dikaji dengan lebih meluas dalam sistem reproduktif lelaki, termasuk 900 MHz (Falzone *et al.* 2011; Odaci *et al.* 2016), 1800 MHz (Demirbağ *et al.* 2023; Lukac *et al.* 2011) dan 2.45 GHz (Almásiová *et al.* 2021; Jamaludin *et al.* 2025; Saygin *et al.* 2011). Bagi frekuensi sekitar 3.5 GHz, bukti yang tersedia masih terhad dan sebahagiannya datang daripada kajian *in vitro*, seperti pendedahan 3500 MHz pada semen haiwan yang menunjukkan perubahan fragmentasi DNA (Butković *et al.* 2024). Oleh itu, masih terdapat jurang bukti *in vivo* yang menilai secara khusus kesan 3.5 GHz terhadap testis dan kualiti sperma dalam model haiwan.

Kekurangan data pada frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G ini mewujudkan jurang pengetahuan yang penting kerana perbezaan frekuensi boleh menghasilkan corak penembusan dan pemendapan tenaga yang berbeza dalam tisu, lalu

berpotensi mencetuskan tindak balas biologi yang tidak sama. Oleh itu, kajian yang menilai secara langsung frekuensi jalur pertengahan seperti 3.5 GHz dan gelombang milimeter seperti 24 GHz masih diperlukan untuk memperkukuh bukti sedia ada mengenai kesan RF-EMF terhadap sistem reproduktif lelaki.

2.26.2 Ketiadaan pendekatan bersepadu antara simulasi dosimetri dan penilaian biologi dalam model haiwan

Satu kelemahan utama dalam kajian-kajian lepas yang sedia ada ialah banyak kajian haiwan yang menilai kesan RF-EMF terhadap sistem reproduktif lelaki melaporkan perubahan biologi tanpa disertai penilaian dosimetri yang cukup jelas atau terperinci.

Dalam kajian bioelektromagnetik, dosimetri bukan sekadar pelengkap teknikal tetapi merupakan asas untuk mentafsir hubungan antara pendedahan fizikal dan tindak balas biologi. Tanpa maklumat yang jelas tentang kuantiti pendedahan seperti taburan tenaga yang diserap dalam tisu, adalah sukar untuk menentukan sama ada perbezaan dapatan antara kajian benar-benar berpunca daripada frekuensi, intensiti, tempoh dedahan atau hanya daripada perbezaan dalam sistem pendedahan yang digunakan (Foster, Ziskin & Balzano 2022).

Isu ini menjadi lebih penting apabila melibatkan frekuensi yang berbeza kerana frekuensi bukan sahaja mempengaruhi magnitud penyerapan tenaga tetapi juga kedalaman penembusan dan corak pemendapan tenaga dalam tisu. Garis panduan ICNIRP 2020 dan ulasan dosimetri pengiraan bagi frekuensi melebihi 6 GHz menegaskan bahawa kuantiti dosimetri yang sesuai boleh berubah mengikut julat frekuensi dan bahawa pemodelan elektromagnetik yang baik diperlukan untuk memahami kaitan antara pendedahan dan kemungkinan kenaikan suhu atau kesan biologi (Hirata & Kodera 2020; ICNIRP 2020).

Walaupun begitu, kebanyakan kajian reproduktif haiwan masih menilai titik akhir biologi seperti kualiti sperma, hormon atau perubahan tisu secara terasing tanpa menghubungkannya secara langsung dengan simulasi dosimetri dalam model anatomi haiwan yang sama. Akibatnya, masih terdapat jurang yang ketara dalam pemahaman

tentang bagaimana corak pemendapan tenaga RF-EMF dalam tubuh haiwan berkait dengan perubahan biologi yang diperhatikan pada testis dan sistem reproduktif lelaki.

Pendekatan bersepadu yang menggabungkan simulasi dosimetri dengan penilaian biologi dalam model haiwan adalah penting kerana ia membolehkan tafsiran yang lebih bermakna dibuat antara corak pendedahan sebenar dan perubahan biologi yang terhasil. Pendekatan sedemikian juga dapat membantu membezakan sama ada sesuatu perubahan lebih berkemungkinan berkait dengan perbezaan frekuensi, perbezaan taburan tenaga dalam tisu atau variasi keadaan eksperimen yang lain.

Oleh itu, masih terdapat keperluan yang jelas kepada kajian haiwan yang menggabungkan simulasi dosimetri yang terperinci dengan penilaian titik akhir biologi yang relevan secara serentak. Pendekatan ini penting untuk mengukuhkan inferens sebab-akibat dan memperbaiki kebolehbandingan antara kajian, khususnya bagi frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G.

2.26.3 Kekurangan reka bentuk pendedahan yang membolehkan perbandingan bermakna antara jalur pertengahan dan gelombang milimeter

Satu lagi jurang penting dalam kajian lepas ialah ketiadaan reka bentuk pendedahan yang benar-benar membolehkan perbandingan bermakna antara frekuensi jalur pertengahan dan gelombang milimeter. Banyak kajian terdahulu menggunakan konfigurasi pendedahan yang sangat berbeza dari segi frekuensi, modulasi, jarak sumber, tempoh dedahan, kuasa pancaran serta kaedah dosimetri, dan ini menyebabkan dapatan antara kajian sukar dibandingkan secara langsung (Cordelli *et al.* 2024).

Isu ini menjadi lebih ketara dalam konteks 5G kerana jalur pertengahan dan gelombang milimeter tidak hanya berbeza dari segi frekuensi, tetapi juga dari segi corak penyebaran, kedalaman penembusan, seni bina rangkaian, dan kaedah penilaian pendedahan yang sesuai. Garis panduan ICNIRP 2020 dan sorotan dosimetri bagi frekuensi melebihi 6 GHz menegaskan bahawa apabila frekuensi meningkat, pemendapan tenaga menjadi semakin superfisial, dan metrik dosimetri yang digunakan bagi frekuensi tinggi juga tidak semestinya sama seperti yang lazim digunakan pada frekuensi lebih rendah (Hirata & Kodera 2020; ICNIRP 2020).

Tambahan pula, penilaian pendedahan dalam rangkaian 5G sebenar turut dipengaruhi oleh faktor seperti pembentuk alur isyarat, arah pancaran, corak trafik dan kedudukan pengguna relatif kepada sumber. Oleh itu, tahap pendedahan yang terhasil dalam jalur pertengahan tidak boleh dianggap terus setara dengan pendedahan dalam gelombang milimeter hanya berdasarkan nilai frekuensi atau kuasa pancaran semata-mata (Aerts *et al.* 2023; Bonato *et al.* 2022a).

Akibatnya, banyak kajian yang menilai satu frekuensi secara berasingan tidak membenarkan penafsiran yang jelas tentang sama ada perbezaan dapatan biologi benar-benar berpunca daripada frekuensi itu sendiri atau daripada perbezaan sistem pendedahan dan dosimetri yang digunakan. Berdasarkan sorotan semasa, masih terdapat kekurangan kajian yang membandingkan secara terus jalur pertengahan dan gelombang milimeter dalam model biologi yang sama menggunakan reka bentuk pendedahan yang seragam dan boleh dibandingkan (Cordelli *et al.* 2024; Simkó & Mattsson 2019).

Oleh itu, kajian yang menggunakan reka bentuk pendedahan yang membolehkan perbandingan terus antara frekuensi jalur pertengahan seperti 3.5 GHz dan gelombang milimeter seperti 24 GHz masih diperlukan. Reka bentuk sedemikian penting untuk membezakan kesan yang berkait dengan perbezaan frekuensi daripada kesan yang sebenarnya berpunca daripada variasi konfigurasi pendedahan, sekali gus menghasilkan interpretasi biologi yang lebih kukuh dan lebih selari dengan keperluan penilaian risiko bagi teknologi 5G.

2.26.4 Kekurangan penilaian bersepadu terhadap HSP, sitokin radang, apoptosis dan kualiti sperma

Ulasan sistematik kajian eksperimen RF-EMF terhadap sistem reproduktif lelaki menunjukkan bahawa titik akhir yang dinilai merangkumi kualiti sperma, histologi dan histomorfometri testis, kematian sel, penghasilan sperma serta hormon reproduktif (Assefa & Abdu 2025; Cordelli *et al.* 2024). Walau bagaimanapun, penilaian sitokin testis secara menyeluruh masih terhad berbanding parameter sperma, histologi testis, tekanan oksidatif dan apoptosis (Cordelli *et al.* 2024). Berdasarkan corak kajian lepas

ini, penilaian bersepadu yang menghubungkan respons tekanan sel, modulasi imun, apoptosis dan kualiti sperma masih diperlukan.

Penilaian titik akhir biologi secara berasingan boleh mengehadkan keupayaan untuk mentafsir hubungan antara perubahan pada peringkat molekul dan selular dengan perubahan fungsi reproduktif. Sebagai contoh, perubahan motiliti atau daya hidup sperma sukar dikaitkan dengan tindak balas testis tertentu sekiranya parameter tersebut tidak dinilai bersama penanda tekanan sel, modulasi sitokin dan apoptosis. Oleh itu, gabungan beberapa titik akhir biologi dalam reka bentuk eksperimen yang sama boleh memberikan gambaran yang lebih menyeluruh tentang corak tindak balas testis selepas pendedahan RF-EMF (Cordelli *et al.* 2024).

Keperluan ini menjadi lebih penting bagi frekuensi yang relevan kepada aplikasi 5G kerana bukti reproduktif bagi frekuensi tersebut masih terhad dan tidak seragam dari segi frekuensi, dosimetri, tempoh pendedahan serta titik akhir yang dinilai (Cordelli *et al.* 2024; Kenny *et al.* 2024). Penilaian sitokin testis selepas pendedahan RF-EMF khususnya masih kurang berbanding kajian yang menilai parameter sperma, histologi, tekanan oksidatif atau apoptosis (Cordelli *et al.* 2024). Oleh itu, kajian yang menilai HSP, sitokin radang, apoptosis dan kualiti sperma secara bersama dapat membantu mengurangkan jurang antara penilaian respons selular dengan titik akhir fungsi reproduktif.

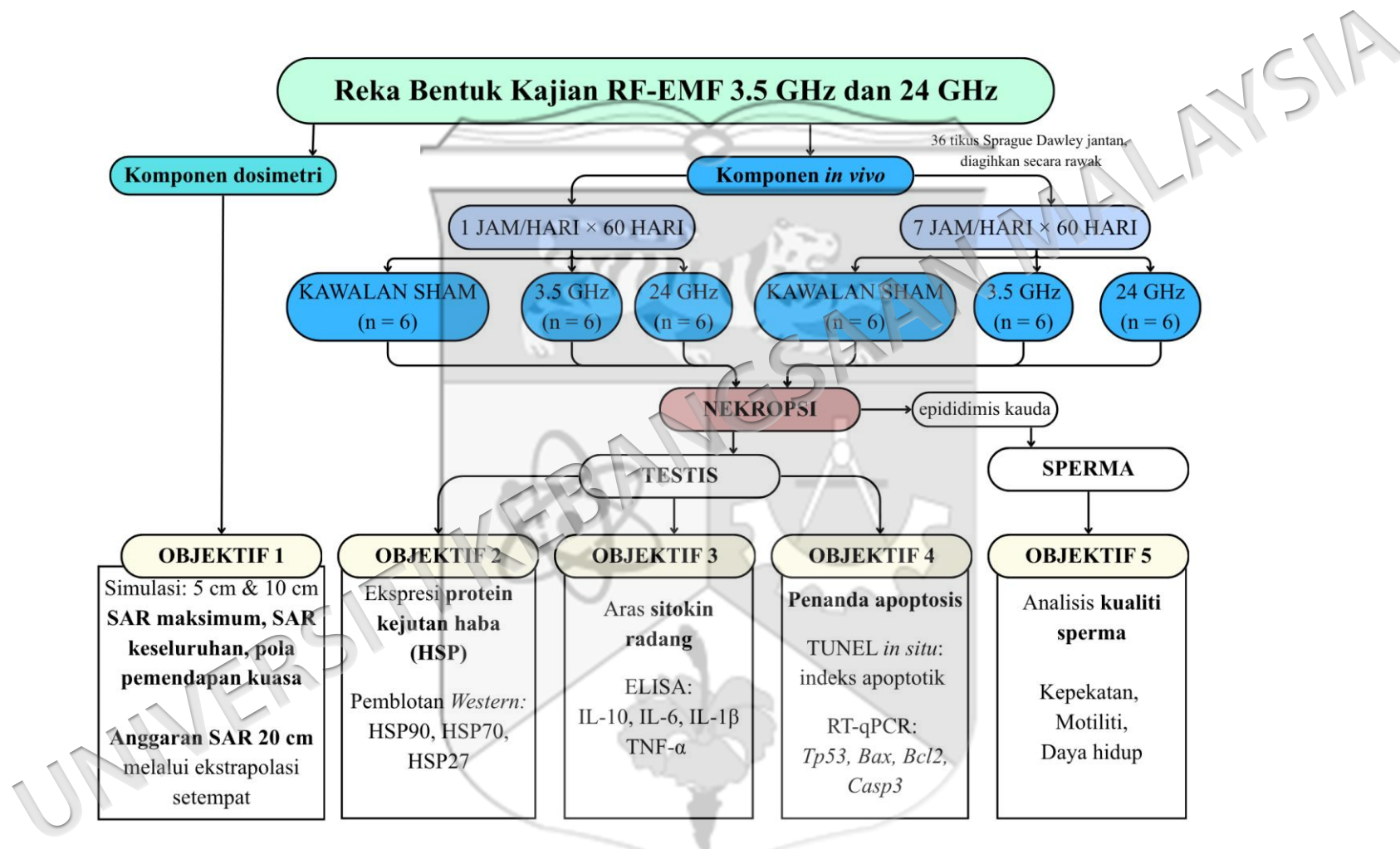
HSP mencerminkan respons stres selular dan pengawalan proteostasis, manakala sitokin tempatan terlibat dalam pengawalan mikro-persekitaran imun testis (Ikwegbue *et al.* 2018; Liu *et al.* 2024; Loveland *et al.* 2017; Washburn *et al.* 2022). Apoptosis pula merupakan proses penting dalam pengawalan populasi sel germinal, tetapi peningkatan apoptosis yang berlebihan boleh menjejaskan epitelium seminiferus dan spermatogenesis (Asadi *et al.* 2021; O' Donnell, Stanton & De Kretser 2017; Print & Loveland 2000; Zakariah *et al.* 2022). Oleh itu, penilaian HSP, sitokin radang, apoptosis dan kualiti sperma secara bersama membolehkan beberapa lapisan tindak balas biologi dinilai dalam konteks yang sama.

BAB III

KAEDAH KAJIAN

3.1 RINGKASAN REKA BENTUK KAJIAN DAN ALIRAN KERJA

Kajian ini merangkumi dua komponen kaedah, iaitu komponen dosimetri dan komponen *in vivo* (Rajah 3.1). Komponen dosimetri dijalankan menggunakan simulasi elektromagnetik untuk menganggarkan metrik SAR dan taburan pemendapan kuasa pada jarak 5 cm dan 10 cm, serta mendapatkan anggaran SAR pada jarak 20 cm melalui ekstrapolasi setempat bagi frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz (Objektif 1). Komponen *in vivo* menggunakan 36 ekor tikus jantan Sprague Dawley yang diagihkan secara rawak kepada tiga keadaan dedahan, iaitu kawalan sham, 3.5 GHz dan 24 GHz, dan bagi setiap keadaan dedahan, haiwan dibahagikan kepada tempoh dedahan harian 1 jam atau 7 jam selama 60 hari berturut-turut ($n = 6$ bagi setiap subkumpulan). Pada akhir tempoh kajian, nekropsi dijalankan dan sperma daripada epididimis kauda digunakan untuk analisis kualiti sperma (Objektif 5). Manakala, tisu testis digunakan untuk penilaian ekspresi protein kejutan haba (HSP90, HSP70, HSP27) melalui pemblotan Western (Objektif 2), ekspresi sitokin radang (IL-10, IL-6, IL-1 β , TNF- α) melalui ELISA (Objektif 3), serta penilaian apoptosis melalui TUNEL *in situ* (indeks apoptotik) dan RT-qPCR bagi gen *Tp53*, *Bax*, *Bcl2* dan *Casp3* (Objektif 4).



Rajah 3.1 Carta alir kajian.

3.2 BAHAN KIMIA

Bahan kimia yang digunakan bagi pelalian terminal dan euthanasia haiwan ialah campuran *Ilium Ketamil Injection*, *Ilium Xylazil-100* (Troy Laboratories Pty Ltd, Australia) dan *Zoletil-100* (Virbac, Perancis) yang disediakan oleh Unit Sumber Haiwan Makmal, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM) (Jadual 3.1). Bahan kimia yang digunakan dalam prosedur pembloatan Western termasuklah 5× SDS penimbal muatan (Cat. No. E-BC-R288, Elabscience, China), penimbal elektroforesis (10×) (Cat. No. E-BC-R331, Elabscience, China), penimbal transmembran (10×) (Cat. No. E-BC-R333, Elabscience, China), metanol (gred analitik), membran PVDF, 0.45 µm (Cat. No. E-BC-R266, Elabscience, China), serbuk susu skim (Cat. No. E-BC-R337, Elabscience, China), dan penimbal TBST, pH 7.4 (10×) (Cat. No. E-BC-R335, Elabscience, China). Senarai kit komersial yang digunakan di dalam pembloatan Western disenaraikan dalam Jadual 3.2. Senarai antibodi-antibodi primer dan sekunder yang digunakan di dalam pembloatan Western disenaraikan di dalam Jadual 3.3 dan Jadual 3.4. Senarai kit komersial yang digunakan di dalam ELISA disenaraikan di dalam Jadual 3.5. Bahan kimia yang digunakan untuk prosedur tindak balas rantaian polimerase kuantitatif-masa nyata (RT-qPCR) ialah 2-mercaptoetanol (Sigma-Aldrich, USA), air bebas nuclease (Merck, Jerman) dan etanol mutlak gred biologi molekul (Sigma-Aldrich, USA). Senarai kit komersial yang digunakan dalam RT-qPCR disenaraikan dalam Jadual 3.6, manakala senarai gen sasaran dan gen jaga selia yang digunakan untuk analisis RT-qPCR disenaraikan dalam Jadual 3.7. Jujukan primer ke hadapan dan ke belakang pula disenaraikan dalam Jadual 3.11. Bahan kimia yang digunakan untuk prosedur ujian TUNEL *in situ* pada keratan parafin termasuklah formalin 10% berpenimbal neutral (Chemiz, Malaysia), xilena (Merck, Jerman), etanol mutlak dan gred menurun (Sigma-Aldrich, USA), penimbal salin fosfat (PBS) (Gibco, Thermo Fisher Scientific, USA), serta ejen anti-pudar kependarfluoran (Elabscience, China). Senarai kit komersial yang digunakan di dalam ujian TUNEL disenaraikan di dalam Jadual 3.8. Bahan kimia yang digunakan di dalam analisis kualiti sperma adalah larutan PBS (Gibco, Thermo Fisher, USA), natrium sitrat dihidrat (Nacalai Tesque, Jepun), D-fruktos (Sigma-Aldrich, USA), dan kit Kwik-Diff (Epremedia, USA).

Jadual 3.1 Kepekatan stok, kepekatan campuran KTX dan kepekatan larutan kerja (pencairan 1:4) bagi komponen ketamine, xylazine, tiletamine dan zolazepam yang digunakan dalam kaedah pelalian.

Komponen	Kepekatan stok (mg/mL)	Kepekatan campuran KTX (mg/mL)	Kepekatan larutan kerja (mg/mL)
Ketamine (Ilium Ketamil)	100	33.33	6.67
Xylazine (Ilium Xylazil-100)	100	33.33	6.67
Tiletamine (daripada Zoletil-100)	50	16.67	3.33
Zolazepam (daripada Zoletil-100)	50	16.67	3.33

Zoletil-100 selepas rekonstitusi mengandungi 50 mg/mL tiletamine dan 50 mg/mL zolazepam, larutan kerja disediakan melalui pencairan campuran KTX pada nisbah 1:4 menggunakan air steril untuk suntikan.

Jadual 3.2 Senarai kit komersial yang digunakan untuk pemblotan Western.

Kit	Syarikat	Nombor Katalog
Pierce™ BCA Protein Assay Kits	Thermo Fisher Scientific, USA	23227
RIPA Lysis Buffer (Strong)	Elabscience, China	E-BC-R327
SDS-PAGE Gel Kit	Elabscience, China	E-IR-R305
Excellent Chemiluminescent Substrate (ECL) Kit	Elabscience, China	E-IR-R301

Jadual 3.3 Senarai antibodi primer yang digunakan untuk pemblotan Western

Antibodi	Syarikat	Nombor Katalog	Nisbah
Poliklon HSP90 alpha	Elabscience, China	E-AB-70141	1:1000
Poliklon HSP70	Elabscience, China	E-AB-40490	1:1000
Poliklon HSP27	Elabscience, China	E-AB-31748	1:500
Anti-β-aktin berkonjugat HRP	Abcam, UK	ab49900	1:1000

Jadual 3.4 Senarai antibodi sekunder yang digunakan untuk pemblotan Western.

Antibodi	Syarikat	Nombor Katalog	Nisbah
Kambing anti-arnab IgG (H+L) berkonjugat HRP	Elabscience, China	E-AB-1003	1:5000

Jadual 3.5 Senarai kit komersial yang digunakan untuk ELISA

Kit ELISA	Syarikat	Nombor Katalog
Rat TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α)	Elabscience, China	E-EL-R2856
Rat IL-1 β (Interleukin 1 β)	Elabscience, China	E-EL-R0012
Rat IL-6 (Interleukin 6)	Elabscience, China	E-EL-R0015
Rat IL-10 (Interleukin 10)	Elabscience, China	E-EL-R0016

Jadual 3.6 Senarai kit komersial yang digunakan untuk RT-qPCR

Kit	Syarikat	Nombor Katalog
NucleoSpin RNA, Mini kit for RNA purification	Macherey-Nagel, Germany	740955.50
RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit	Thermo Fisher Scientific, USA	K1622
qPCRBIO SyGreen® Mix	PCR Biosystem, UK	PB20.14-05

Jadual 3.7 Senarai gen sasaran dan gen jaga selia yang digunakan untuk RT-qPCR

Primer	Jenis Gen	Syarikat	Nombor Ref Seq
<i>Tp53</i>	Sasaran	Integrated DNA Technologies (IDT), USA	NM_030989
<i>Bax</i>	Sasaran	Integrated DNA Technologies (IDT), USA	NM_017059
<i>Bcl2</i>	Sasaran	Integrated DNA Technologies (IDT), USA	NM_016993
<i>Casp3</i>	Sasaran	Integrated DNA Technologies (IDT), USA	NM_012922
<i>Actb</i>	Jaga selia	Integrated DNA Technologies (IDT), USA	NM_031144
<i>Ccna2</i>	Jaga selia	Integrated DNA Technologies (IDT), USA	NM_053702

Jadual 3.8 Senarai kit komersial yang digunakan untuk ujian TUNEL

Kit	Syarikat	Nombor Katalog
One-step TUNEL In Situ Apoptosis Kit (Green, FITC)	Elabscience, China	E-CK-A320

3.3 ALAT RADAS

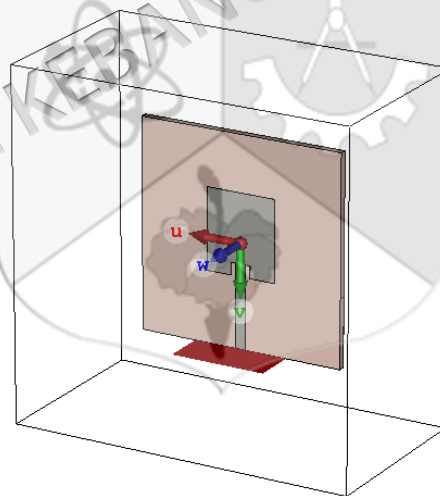
Alat radas yang digunakan dalam kajian ini termasuklah botol Schott (Schott Duran, Jerman) dan silinder penyukat (E-MIL Gold Line, UK), plat 96 telaga (SPL Life Sciences, Korea), takungan pipet (Nest Biotechnology, China), tiub 2 mL, tiub PCR 0.2 mL dan tiub mikroempar 1.5 mL (Eppendorf, Jerman), tiub 15 mL (Nest Biotechnology, China), mikropipet dan pipet multisaluran (Eppendorf, Jerman), tip pipet (Axygen, Corning Inc., USA; Eppendorf, Jerman), pipet plastik Pasteur (Nest Biotechnology, China), pipet serologi (Trueline, USA), kaset tisu (Diapath, Itali), slaid kaca biasa (Premier, C & A Scientific, USA), slaid kaca bercas (Porlab, China), pisau bedah skalpel (Paramount, India), pisau bilah mikrotom 818 (Leica, Jerman), parafilem (Parafilm M, USA), forsep dan gunting pembedahan, serta kebuk pengiraan *Makler* dengan kedalaman 10 μm (Sefi Medical Instruments, Haifa, Israel). Mesin yang digunakan dalam kajian ini termasuklah peti sejuk ultra -80°C (Eppendorf, Jerman), mesin pengempar dan pengempar mini (Eppendorf, Jerman), penggoncang vorteks dan penggoncang mini (Stuart Scientific, United Kingdom), mandian air (Memmert, Jerman), serta sistem penapisan air Milli-Q (Millipore Corporation, USA).

Mesin khusus untuk prosedur penyediaan slaid TUNEL termasuk mesin pemprosesan tisu automatik (Leica TP1020, Jerman), mesin pembenaman tisu (Leica EG1160, Jerman), mikrotom (Leica RM2135, Jerman), dan mesin tisu mandian terapung (Lab-Line Tissue Float Baths, USA), manakala analisis dilakukan menggunakan mikroskop pendarfluor terbalik NIKON Eclipse Ti-S (Nikon, Jepun). Mesin yang digunakan untuk RT-qPCR ialah termasuk mesin CFX96 Real-Time PCR System (C1000 Touch Thermal Cycler, Bio-Rad Laboratories, USA), mesin SelectCycler II Thermal Cycler (Select Bioproducts, USA) dan spektrofotometer NanoDrop (DeNovix, USA). Mesin yang digunakan untuk analisis sperma ialah mikroskop cahaya Olympus CX31 (Olympus Optical, Jepun) Manakala, mesin yang digunakan untuk ELISA ialah mesin pembaca plat mikro kolorimetri (SpectraMax, USA) dan inkubator bersuhu 37°C (RS Biotech Galaxy Plus, Scotland, UK). Mesin digunakan dalam prosedur pembloatan Western adalah set elektroforesis (Bio-Rad Laboratories, USA) dan mesin penggoncang.

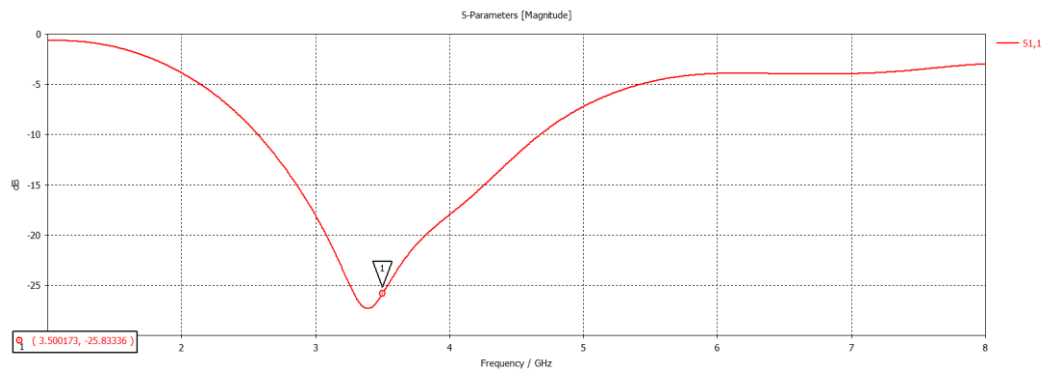
3.4 TETAPAN BAGI PENDEDAHAN RF-EMF BERFREKUENSI TINGGI

3.4.1 Antena 3.5 GHz

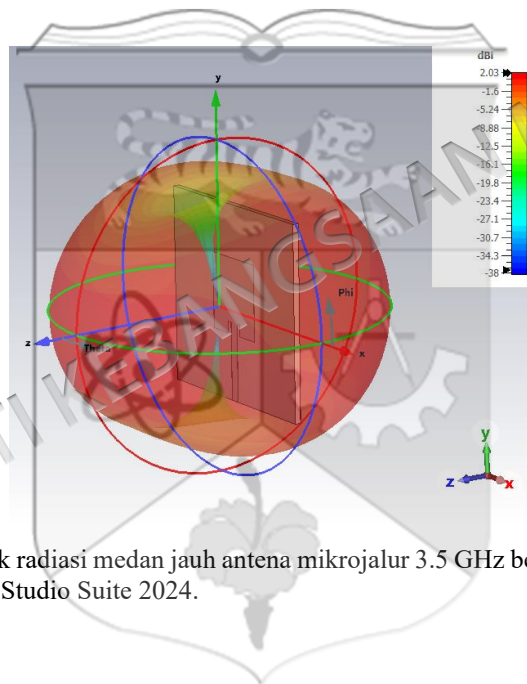
Antena mikrojalur berfrekuensi 3.5 GHz telah direka bentuk dan dioptimumkan menggunakan perisian CST Studio Suite 2024 (Dassault Systèmes, France) dengan kerjasama Fakulti Teknologi dan Kejuruteraan Elektronik dan Komputer, Universiti Teknikal Malaysia Melaka (UTeM) (Rajah 3.2). Reka bentuk ini bertujuan untuk menyokong simulasi SAR dan pelaksanaan dedahan *in vivo*. Spesifikasi reka bentuk antena dirujuk berdasarkan parameter S dan corak pancaran medan jauh yang diperoleh daripada simulasi CST Studio Suite 2024. Parameter ini digunakan sebagai rujukan bagi menggambarkan ciri asas antena yang direka pada frekuensi 3.5 GHz (Rajah 3.3, Rajah 3.4). Antena yang direka bentuk kemudiannya difabrikasi secara dalaman untuk digunakan sebagai sumber pancaran elektromagnetik pada frekuensi sasaran (Rajah 3.5).



Rajah 3.2 Model geometri antena mikrojalur 3.5 GHz yang digunakan dalam simulasi CST Studio Suite 2024.

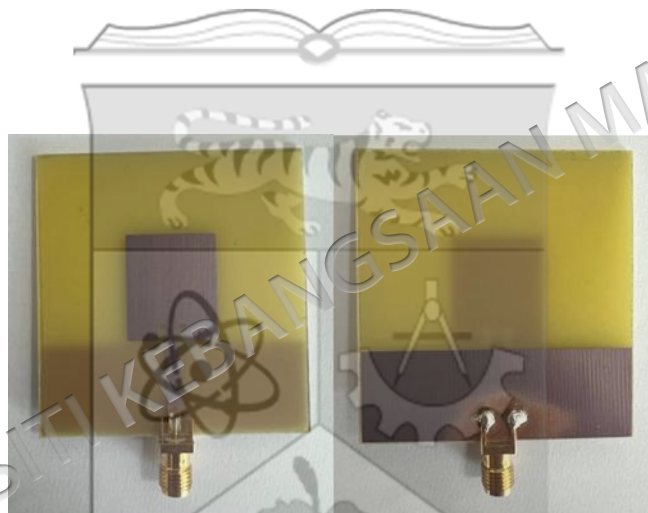


Rajah 3.3 Graf S-parameter bagi antenna mikrojalur 3.5 GHz yang diperoleh daripada simulasi CST Studio Suite 2024.



Rajah 3.4 Corak radiasi medan jauh antenna mikrojalur 3.5 GHz berdasarkan simulasi CST Studio Suite 2024.

Untuk menjana isyarat pada frekuensi ujian, SynthHD (v2): 10 MHz – 15 GHz Dual Channel Microwave Generator (Windfreak Technologies, USA) digunakan sebagai penjana isyarat kerana kebolehannya menghasilkan isyarat yang stabil pada frekuensi tinggi (Rajah 3.6). Penentukuran awal dilakukan menggunakan perisian SynthHD GUI dan isyarat dijana pada frekuensi 3.5 GHz dengan kuasa tetap 22 dBm (Rajah 3.7). Isyarat yang dijana dipantau menggunakan USB-SA124B - 12.4 GHz Spectrum Analyzer (Signal Hound, USA) (Rajah 3.8). Manakala visualisasi dan rakaman dilakukan melalui perisian Spike dalam selang masa yang ditetapkan (Rajah 3.9). Perisian ini membolehkan pemantauan berterusan terhadap kestabilan isyarat sepanjang tempoh pendedahan.



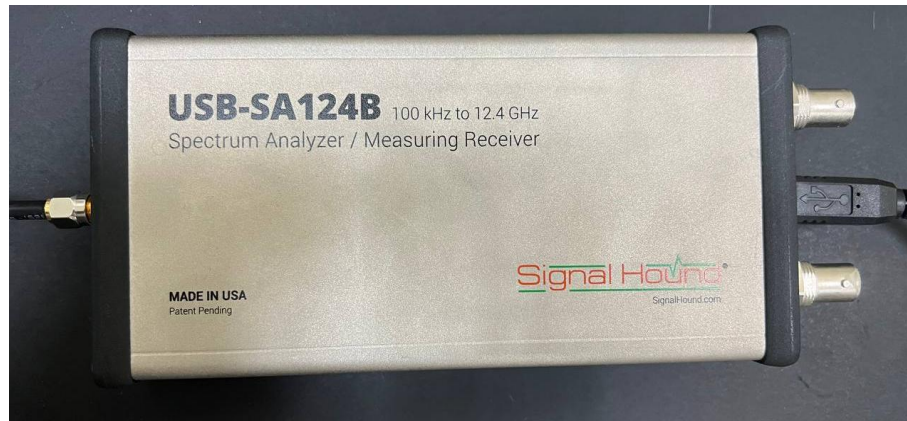
Rajah 3.5 3.5 GHz antenna mikrostrip bahagian depan (Kiri) dan bahagian belakang (Kanan).



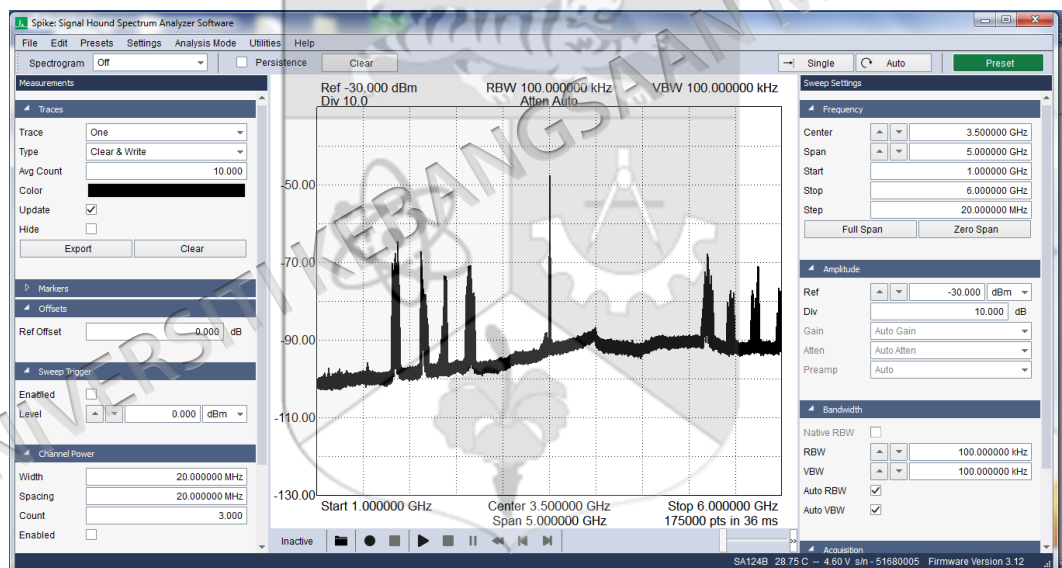
Rajah 3.6 Penjana isyarat RF dua saluran SynthHD (Windfreak).



Rajah 3.7 Perisian SynthHD GUI untuk kawalan penjana isyarat RF SynthHD.



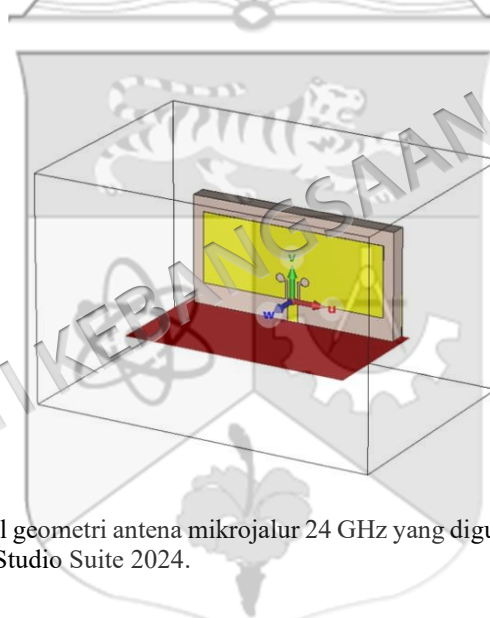
Rajah 3.8 Penganalisis spektrum dan penerima pengukuran USB-SA124B (Signal Hound).



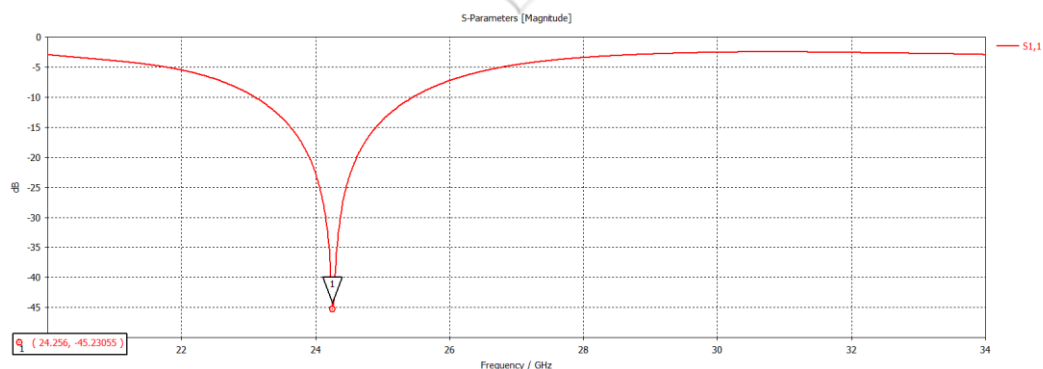
Rajah 3.9 Perisian Spike untuk verifikasi frekuensi menggunakan penganalisis spektrum Signal Hound SA124B.

3.4.2 Antena 24 GHz

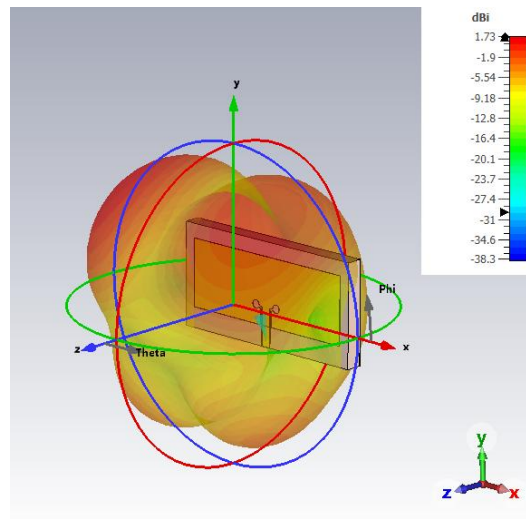
Bagi frekuensi 24 GHz, dua pendekatan berbeza telah digunakan dalam kajian ini mengikut tujuan analisis dan pelaksanaan eksperimen. Antena mikrojalur berfrekuensi 24 GHz telah direka bentuk dan disimulasikan menggunakan perisian CST Studio Suite 2024 (Dassault Systèmes, France) bagi tujuan analisis elektromagnetik, simulasi SAR dan penilaian taburan pemendapan kuasa (Rajah 3.10). Reka bentuk ini digunakan sebagai model simulasi sahaja dan tidak difabrikasi untuk digunakan dalam prosedur dedahan *in vivo*. Spesifikasi reka bentuk antena simulasi ini dirujuk berdasarkan parameter S dan corak pancaran medan jauh yang diperoleh daripada simulasi CST Studio Suite 2024 (Rajah 3.11, Rajah 3.12). Parameter ini digunakan sebagai rujukan bagi menggambarkan ciri asas antena yang direka pada frekuensi 24 GHz.



Rajah 3.10 Model geometri antena mikrojalur 24 GHz yang digunakan dalam simulasi CST Studio Suite 2024.



Rajah 3.11 Graf S-parameter, S11 bagi antena mikrojalur 24 GHz yang diperoleh daripada simulasi CST Studio Suite 2024.



Rajah 3.12 Corak radiasi medan jauh antenna mikrojalur 24 GHz berdasarkan simulasi CST Studio Suite 2024.

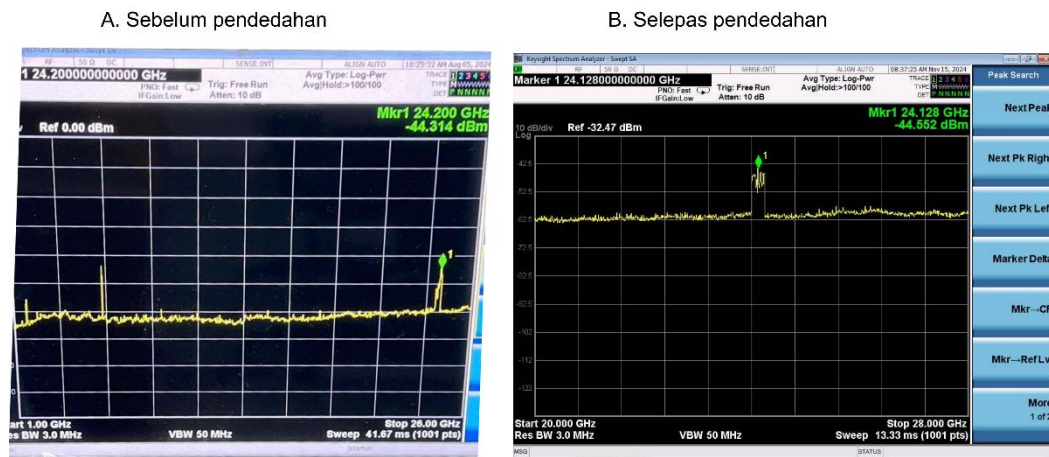
Bagi pelaksanaan dedahan *in vivo*, kajian ini menggunakan peranti pengesan kehadiran manusia yang mempunyai modul komersial HLK-LD2420 (Rajah 3.13). Modul ini ialah modul radar gelombang milimeter yang beroperasi dalam jalur 24 hingga 24.25 GHz bersaiz 20 mm × 20 mm (Rajah 3.14). Modul ini dilengkapi dengan antenna pemancar dan penerima terbina dalam yang beroperasi pada frekuensi 24 GHz dalam jalur Perindustrian, Saintifik dan Perubatan (*Industrial, Scientific and Medical; ISM*) tanpa memerlukan lesen khas. Dalam kajian ini, modul HLK-LD2420 digunakan sebagai sumber pancaran 24 GHz bagi tujuan pendedahan haiwan eksperimen. Untuk memastikan modul berfungsi semasa pendedahan dijalankan, peranti ini disambungkan kepada perisian pemantauan pada telefon bimbit hos. Untuk mengesahkan fungsi modul HLK-LD2420 sebagai sumber pancaran 24 GHz, pengukuran spektrum telah dijalankan sebelum dan selepas prosedur pendedahan menggunakan penganalisis isyarat Keysight EXA Signal Analyzer N9010A (Rajah 3.15). Dalam kedua-dua pengukuran, puncak spektrum masih diperhatikan dalam julat sekitar 24 GHz. Dapatan ini menunjukkan bahawa modul HLK-LD2420 terus menghasilkan pancaran yang konsisten dalam julat frekuensi sasaran sepanjang tempoh eksperimen.



Rajah 3.13 Peranti pengesan kehadiran manusia.



Rajah 3.14 Modul radar gelombang milimeter 24 GHz HLK-LD2420 untuk pengesanan kehadiran manusia.



Rajah 3.15 Verifikasi frekuensi 24 GHz yang dihasilkan oleh peranti sebelum dan selepas pendedahan.

3.5 SIMULASI KADAR PENYERAPAN KHUSUS (SAR) DAN TABURAN PEMENDAPAN KUASA

Simulasi elektromagnetik telah dijalankan menggunakan CST Studio Suite 2024 (Dassault Systèmes, France). Model voksels tikus jantan dewasa telah diimport daripada CST BioExtension Library, dan setiap tisu diberikan sifat dielektrik berdasarkan pangkalan data rujukan yang terkandung dalam pustaka tersebut. Sifat dielektrik tisu diselaraskan mengikut frekuensi simulasi menggunakan fungsi *adjust tissues to frequency*.

Dua model antenna mikrojalur yang ditala pada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz telah digunakan untuk analisis dosimetri berasaskan simulasi. Bagi 3.5 GHz, model simulasi adalah sama dengan antenna yang difabrikasi dan digunakan dalam dedahan *in vivo*. Bagi 24 GHz pula, model antenna mikrojalur digunakan sebagai model rujukan dosimetri, manakala dedahan *in vivo* dijalankan menggunakan modul radar HLK-LD2420. Oleh itu, hasil dosimetri 24 GHz ditafsirkan sebagai gambaran corak pemendapan tenaga bagi frekuensi 24 GHz dalam model voksels, bukan sebagai dosimetri langsung bagi modul HLK-LD2420. Simulasi dijalankan menggunakan *Time-Domain Solver* dengan *hexahedral mesh*, serta penapisan mesh yang lebih halus di kawasan berhampiran permukaan model bagi meningkatkan resolusi pengiraan SAR setempat. Persekitaran simulasi ditetapkan sebagai ruang bebas untuk menyerupai keadaan dedahan dalam udara terbuka.

Bagi setiap frekuensi, model antenna diletakkan secara langsung di atas permukaan dorsal model voksel tikus pada jarak sumber-ke-model 5 cm dan 10 cm. Kemudian, antenna diuja menggunakan takrif port CST dan kuasa yang diterima pada port suapan (*accepted power at the feed*; P_{acc}) direkodkan. Bagi setiap kombinasi frekuensi dan jarak, dua metrik dosimetri diperoleh dengan menggunakan fungsi pasca-pemprosesan CST, iaitu nilai SAR maksimum purata 10 g tisu dan nilai SAR purata seluruh badan. Dalam tesis ini, SAR maksimum purata 10 g tisu selepas ini dirujuk sebagai SAR maksimum, manakala SAR purata seluruh badan dirujuk sebagai SAR keseluruhan. Nilai SAR (maksimum dan keseluruhan) mentah kemudian dinormalkan kepada 1 W kuasa yang diterima dengan membahagikan nilai SAR simulasi dengan P_{acc} . Berikut adalah formula yang digunakan untuk mendapatkan nilai tersebut:

$$SAR^{(1\text{ W})} = SAR^{(\text{mentah})} \times \frac{1}{P_{acc}}$$

Simulasi langsung pada jarak 20 cm tidak dilaksanakan kerana peluasan domain simulasi bagi model voksel penuh pada jarak tersebut meningkatkan keperluan memori dan sumber pengkomputeran melebihi kapasiti sistem yang tersedia. Oleh itu, nilai SAR pada jarak 20 cm dianggarkan berdasarkan hasil simulasi pada jarak 5 cm dan 10 cm. Untuk menganggar nilai SAR pada jarak 20 cm iaitu jarak antenna-ke-sangkar yang digunakan dalam eksperimen biologi, ekstrapolasi hukum kuasa tempatan (*local power law*) diaplikasikan secara berasingan bagi setiap metrik berdasarkan nilai simulasi pada 5 cm dan 10 cm. Dalam pendekatan ini, nilai SAR pada jarak tertentu ($SAR(r)$) dianggarkan daripada nilai SAR pada 10 cm (SAR_{10cm}), menggunakan hubungan:

$$SAR(r) = SAR_{10cm} \left(\frac{10}{r} \right)^n$$

dengan n mewakili eksponen kejatuhan setempat yang diperoleh daripada nilai simulasi pada 5 cm dan 10 cm iaitu:

$$n = \frac{\ln(SAR_{5cm}/SAR_{10cm})}{\ln(10/5)}$$

Pendekatan ini digunakan secara berasingan bagi nilai SAR maksimum dan SAR keseluruhan untuk mendapatkan anggaran pada jarak 20 cm. Walau bagaimanapun, nilai ini hendaklah ditafsir sebagai anggaran dosimetri setempat yang memberikan anggaran tertib magnitud (*order-of-magnitude estimate*) pada jarak 20 cm, dan bukan sebagai simulasi langsung atau model penskalaan jarak yang telah disahkan sepenuhnya bagi keseluruhan geometri medan dekat. Oleh itu, dalam kajian ini, semua nilai SAR pada jarak 20 cm dirujuk sebagai anggaran SAR 20 cm dan bukan sebagai nilai SAR simulasi langsung.

Taburan pemendapan kuasa divisualisasikan dalam bentuk peta kontur 2D bagi menunjukkan corak agihan tenaga RF-EMF dalam model tikus.

3.6 HAIWAN KAJIAN

Sebanyak 36 ekor tikus jantan Sprague Dawley berumur antara 6 hingga 10 minggu dengan berat badan antara 200 hingga 250 g telah digunakan dalam kajian ini. Haiwan ini diperoleh daripada Unit Sumber Haiwan Makmal (Fakulti Perubatan) dan Kompleks Penjagaan Haiwan Makmal (Fakulti Sains dan Teknologi), Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM).

Status kesihatan haiwan dinilai melalui pemeriksaan klinikal ringkas sebaik diterima di fasiliti (contohnya tahap aktiviti dan responsif, keadaan bulu, mata dan hidung, kehadiran luka, tanda respiratori atau cirit-birit). Haiwan yang menunjukkan tanda tidak sihat semasa tempoh aklimatisasi tidak dimasukkan ke dalam kumpulan kajian dan digantikan melalui rumah haiwan sebelum proses pengagihan rawak. Kriteria inklusi ialah tikus jantan yang kelihatan sihat dan berada dalam julat umur serta berat yang ditetapkan, manakala kriteria eksklusi ialah kehadiran tanda penyakit atau kecederaan yang boleh menjejaskan titik akhir kajian.

3.7 PENEMPATAN HAIWAN

Semua haiwan ditempatkan secara individu dalam sangkar *Individually Ventilated Cage* (IVC) (Techniplast) berukuran $395 \times 345 \times 213$ mm yang dialas dengan serbuk kenaf. Sangkar-sangkar ini disimpan di Makmal Haiwan, Aras 8, Bangunan Prakilinikal, Fakulti Perubatan UKM. Suhu persekitaran dikekalkan pada $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ dengan kitaran pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Sangkar dibersihkan dan serbuk kenaf diganti seminggu sekali. Semua haiwan diberi makanan pelet dan air minuman secara *ad libitum*. Tempoh aklimatisasi dijalankan selama satu minggu sebelum permulaan dedahan kepada RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz. Sepanjang tempoh ini, haiwan dibawa secara berkala ke bilik dedahan di Makmal Gamet, Jabatan Fisiologi, Aras 9, Bangunan Prakilinikal untuk membiasakan diri dengan prosedur dan persekitaran dedahan.

3.8 KELULUSAN ETIKA HAIWAN

Semua prosedur melibatkan penggunaan haiwan kajian dan pengambilan sampel telah mendapat kelulusan daripada Jawatankuasa Etika Haiwan Universiti Kebangsaan Malaysia (UKMAEC). Kod kelulusan bagi kajian ini ialah FP/2023/FARAH HANAN/15-FEB./1310-FEB.-2023-FEB.-2025 (Lampiran A).

3.9 KAEDAH PELALIAN

Setelah tamat tempoh dedahan, semua haiwan dibius melalui suntikan *intraperitoneum* (i.p.) menggunakan larutan pelali campuran *Ilium Ketamil Injection*, *Ilium Xylazil-100* (Troy Laboratories Pty Ltd, Australia) dan *Zoletil-100* (Virbac, Australia). Dos pelalian diberikan pada isipadu 0.1 mL per 100 g berat badan (1.0 mL/kg) menggunakan larutan kerja yang disediakan melalui pencairan campuran KTX dengan air steril untuk suntikan pada nisbah 1:4 (campuran KTX:air steril). Tahap anestesia dalam disahkan melalui ketiadaan refleks membetulkan posisi badan (*righting reflex*), tiada respons terhadap cubitan ekor, ketiadaan refleks pedal, serta ketiadaan refleks kornea. Setelah itu, prosedur pengambilan darah terminal dan pengumpulan testis serta epididimis untuk analisis lanjut dijalankan.

3.10 REKA BENTUK KAJIAN

Haiwan kajian dibahagikan secara rawak kepada dua kumpulan mengikut tempoh dedahan harian, iaitu kumpulan dedahan selama 1 jam dan kumpulan dedahan selama 7 jam. Setiap kumpulan ini terdiri daripada tiga subkumpulan, iaitu kumpulan kawalan sham, kumpulan dedahan 3.5 GHz dan kumpulan dedahan 24 GHz. Kumpulan kawalan sham ditempatkan dalam susunan pendedahan yang sama tetapi tanpa pengaktifan antenna. Tempoh dedahan harian dikekalkan secara konsisten selama 60 hari berturut-turut berdasarkan kajian terdahulu (Kim *et al.* 2007).

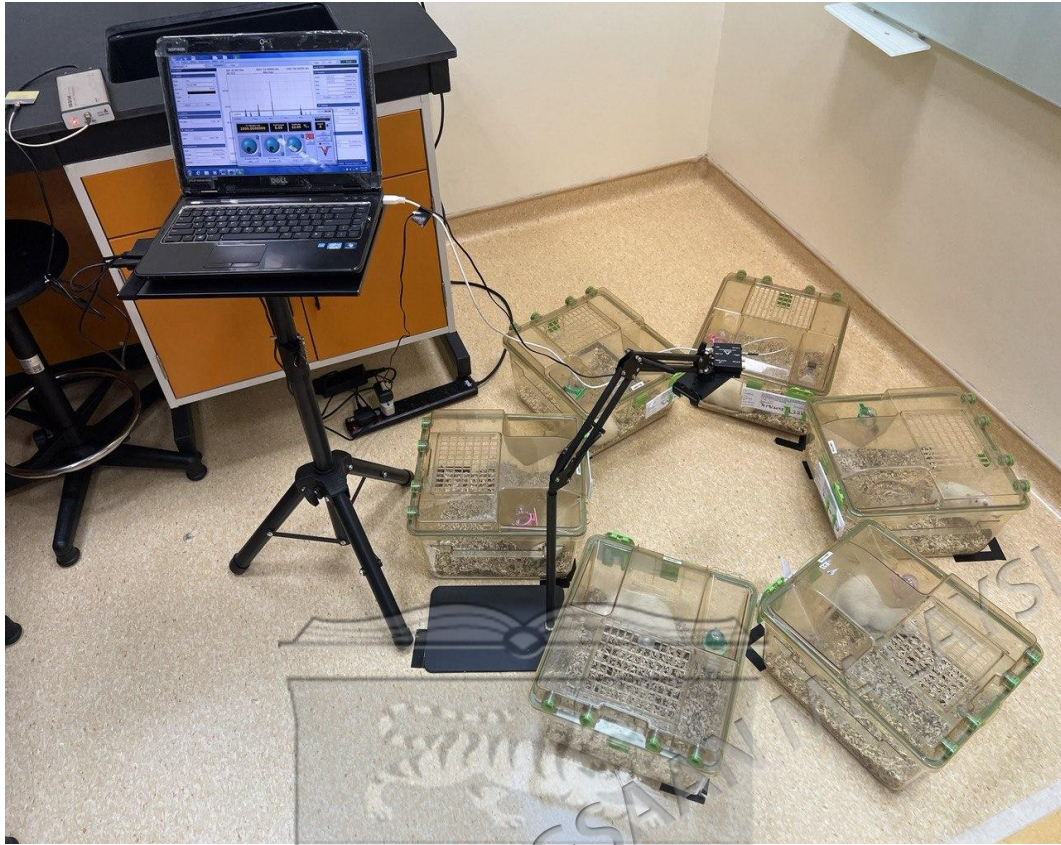
3.11 PENDEDAHAN KEPADA RF-EMF BERFREKUENSI TINGGI

Eksperimen dedahan dijalankan di Makmal Gamet, Aras 9, Jabatan Fisiologi, Fakulti Perubatan, Universiti Kebangsaan Malaysia. Sangkar tikus disusun dalam corak bulatan dengan sumber pancaran diletakkan pada ketinggian tetap 20 cm di atas pusat susunan sangkar (Rajah 3.16 dan Rajah 3.17). Susunan ini digunakan untuk menyeragamkan geometri dedahan antara haiwan sepanjang eksperimen. Bagi kumpulan dedahan 3.5 GHz, antenna mikrostrip yang telah direka dan difabrikasi digunakan sebagai pemancar RF-EMF. Bagi kumpulan dedahan 24 GHz pula, modul antenna komersial HLK-LD2420 digunakan sebagai sumber pancaran. Jarak sumber-ke-pusat susunan sangkar dikekalkan secara konsisten bagi kedua-dua frekuensi pada 20 cm, manakala nilai dosimetri pada jarak ini ditafsir sebagai anggaran SAR 20 cm yang diperoleh melalui ekstrapolasi daripada simulasi 5 cm dan 10 cm, bukan sebagai simulasi langsung terhadap susunan pendedahan haiwan sebenar. Kumpulan sham ditempatkan dalam persekitaran dan susunan yang sama, tetapi tanpa pengaktifan antenna. Keadaan persekitaran seperti suhu bilik dan lokasi pendedahan dikekalkan secara konsisten sepanjang tempoh kajian bagi meminimumkan gangguan fisiologi yang boleh mempengaruhi keputusan eksperimen.



3.12 NEKROPSI

Pada akhir tempoh dedahan, prosedur nekropsi dijalankan untuk pengumpulan testis bagi analisis protein, RNA dan ujian TUNEL, serta sperma daripada kauda epididimis bagi penilaian parameter sperma.



Rajah 3.17 Susunan lengkap sangkar bersama semua peranti ketika dedahan dilakukan.

3.12.1 Pengumpulan organ

Testis kanan dan kiri tikus dikeluarkan dengan mengenakan tekanan lembut pada kedua-dua sisi skrotum untuk mengeluarkan testis daripada kantung skrotum. Testis kemudian diasingkan dengan membersihkan lemak peritestic secara berhati-hati menggunakan forsep tumpul. Epididimis, vas deferens dan salur darah testis seterusnya dipisahkan secara berhati-hati. Testis kanan segera dibekukan dalam nitrogen cecair dan disimpan pada suhu -80°C sehingga proses pengekstrakan protein dan RNA dijalankan. Testis kiri pula difiksasi dalam 10% formalin berpenimbal neutral untuk penyediaan keratan tisu parafin bagi ujian TUNEL. Kauda epididimis direndam dalam larutan phosphate-buffered saline (PBS) (Oxoid, United Kingdom) pada suhu 37°C sebelum penilaian parameter sperma dijalankan..

3.13 ANALISIS PROTEIN KEJUTAN HABA (HSP) MELALUI PEMBLATAN WESTERN

Teknik pemblotan Western digunakan untuk menilai ekspresi protein kejutan haba HSP90, HSP70, dan HSP27 dalam homogenat testis tikus. Semua prosedur dijalankan menggunakan kit dan antibodi komersial yang disenaraikan dalam Jadual 3.2 hingga Jadual 3.4. Ekspresi protein sasaran kemudiannya dinormalisasikan terhadap β -aktin sebagai kawalan pemuatan dalaman.

3.13.1 Penyediaan reagen

1. Larutan Lisis RIPA Tertimbal + PMSF + Na_3VO_4

Sebanyak 10 μL PMSF (Elabscience, China) dan 10 μL Na_3VO_4 (Elabscience, China) dicampurkan kepada 1 mL larutan lisis RIPA tertimbal (Elabscience, China) untuk mendapatkan larutan lisis RIPA tertimbal + PMSF + Na_3VO_4 . Larutan ini disediakan segar dan diletakkan dalam bekas berais sebelum digunakan.

2. Larutan Piawai Serum Albumin Bovin (BSA)

Sebanyak 20 mg serbuk BSA ditimbang dan dicampurkan kepada 10 mL air suling. Larutan piawai segar akan disediakan setiap kali proses penentuan kepekatan protein.

3. Larutan Salin Tris Tween Tertimbal (TBST) 1X

Sebanyak 100 mL larutan TBST 10X (Elabscience, China) dicampurkan dengan 900 mL air suling untuk mendapatkan 1 L larutan TBST 1X. Larutan disediakan segar dan dibiarkan pada suhu bilik sehingga digunakan.

4. Larutan Larian Tertimbal 1X

Sebanyak 100 mL larutan elektroforesis tertimbal 10X (Elabscience, China) dicampurkan dengan 900 mL air suling untuk mendapatkan 1 L larutan larian tertimbal 1X. Larutan disediakan segar dan disimpan pada suhu bilik sehingga digunakan.

5. Larutan Pemindah Tertimbang

Sebanyak 100 mL larutan pemindah tertimbang 10X (Elabsience, China) dilarutkan dengan 700 mL air suling dan dikacau sehingga sebati. Selepas itu, 200 mL metanol ditambah untuk mendapatkan 1 L larutan pemindah tertimbang 1X. Larutan disimpan pada suhu 4°C sehingga digunakan.

6. Larutan 10% Amonium Persulfat (APS)

1.7 mL air suling ditambah ke dalam 170 mg serbuk APS untuk menjadi larutan 10% APS. 100 μ L larutan 10% APS kemudiannya dibahagikan ke dalam beberapa tiub Eppendorf yang berbeza dan disimpan pada suhu -20°C sehingga digunakan.

7. Larutan *Enhanced Chemiluminescent* (ECL)

Reagen A (larutan luminol) dan reagen B (larutan peroksida) dicampurkan dengan nisbah 1:1. Larutan disediakan segar dan dibiarkan pada suhu bilik dalam keadaan gelap.

8. Larutan Antibodi Primer

Antibodi primer disediakan dalam larutan susu skim 5% mengikut pencairan optimum bagi setiap antibodi, iaitu HSP90 1:1000, HSP70 1:1000 dan HSP27 1:500. Larutan disediakan segar dan diletakkan dalam bekas berais sebelum digunakan.

9. Larutan Antibodi Sekunder Peroksidase Horseradish (HRP) (1:5000)

Sebanyak 2 μ L antibodi sekunder dicampurkan dengan 10 mL susu skim 5%. Larutan disediakan segar dan diletakkan dalam bekas berais sebelum digunakan.

3.13.2 Penyediaan homogenat testis tikus

Sebanyak 0.6 g tisu testis dinyahbeku dan dibilas dengan menggunakan larutan PBS yang sejuk. Tisu testis itu dicampurkan bersama ke dalam Larutan Lisis RIPA Tertimbang + PMSF + Na₃VO₄. Kemudian, tisu itu dihancurkan dan dikisar halus menggunakan picagari dan jarum. Proses homogenat tisu ini dilakukan di atas ais. Seterusnya, tisu yang telah dikisar halus dimasukkan ke dalam tiub Eppendorf dan diempar pada 12,000

rpm selama 15 minit pada suhu 4°C. Supernatan yang terhasil kemudian dikumpulkan dan disimpan pada suhu -80°C sehingga digunakan.

3.13.3 Penentuan kepekatan protein tisu homogenat

Kepekatan protein dalam supernatan homogenat testis ditentukan menggunakan Pierce BCA Protein Assay Kits (Thermo Fisher, USA). Pencairan bersiri dilakukan menggunakan Bovine Serum Albumin (BSA) di antara 2 mg/mL hingga 25 µg/mL sebanyak lapan titik pencairan (Jadual 3.9). Larutan kerja WR (*working reagent*) disediakan menggunakan campuran Reagen A dan Reagen B dalam nisbah 50:1. Langkah pertama ini adalah untuk penyediaan siri standard protein yang diketahui kepekataannya dan seterusnya menghasilkan lengkung piawai (*standard curve*). Kemudian, nisbah sampel protein dan larutan kerja WR adalah ditentukan sebanyak 1:15. Oleh itu, 15 µL sampel protein yang tidak diketahui kepekataannya dicampurkan dengan 225 µL larutan kerja WR di dalam telaga plat mikro secara duplikasi. Campuran itu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 minit. Ini menghasilkan reaksi perubahan warna yang berkadar dengan kepekatan protein. Selepas inkubasi, keamatan warna diukur menggunakan SpectraMax Plus 384 Microplate Reader (Molecular Devices, USA) dengan jarak gelombang 562 nm. Keputusan yang diperolehi dibandingkan dengan lengkung piawai untuk menentukan kepekatan protein dalam sampel.

Jadual 3.9 Pencairan bersiri Bovine Serum Albumin (BSA).

Tiub	Kepekatan BSA (µg/mL)
A	2000
B	1500
C	1000
D	750
E	500
F	250
G	125
H	25
I	0 (air suling)

3.13.4 Penyediaan gel poliakrilamida natrium dodesil sulfat (SDS-PAGE)

Dalam kajian ini, gel SDS-PAGE terdiri daripada dua komponen, iaitu gel pemisah dan gel tindanan. Gel pemisah 10% digunakan untuk pemisahan protein HSP70 dan HSP90, manakala gel pemisah 15% digunakan untuk pemisahan protein HSP27. Penggunaan gel 15% bagi HSP27 bertujuan meningkatkan resolusi pemisahan protein berat molekul rendah. Gel tindanan 5% pula digunakan untuk mengumpulkan protein sebelum memasuki gel pemisah. Semua gel disediakan menggunakan SDS-PAGE Gel Kit (Elabscience, China).

Bagi penyediaan 5 mL larutan gel tindanan 5%, sebanyak 830 μ L akrilamida/bisakrilamida 30%, 680 μ L Stacking Gel Mix, 50 μ L larutan APS 10%, dan 5 μ L TEMED disebatikan dalam 3.4 mL air suling. Bagi penyediaan 10 mL larutan gel pemisah 10%, sebanyak 3.3 mL akrilamida/bisakrilamida 30%, 2.6 mL Separating Gel Mix, 100 μ L larutan APS 10%, dan 4 μ L TEMED disebatikan dalam 4 mL air suling. Bagi penyediaan 10 mL larutan gel pemisah 15%, sebanyak 5.0 mL akrilamida/bisakrilamida 30%, 2.6 mL Separating Gel Mix, 100 μ L larutan APS 10%, dan 4 μ L TEMED disebatikan dalam 2.3 mL air suling.

Set acuan gel terdiri daripada sekeping plat kaca pendek dan sekeping plat kaca panjang. Sebelum digunakan, set acuan gel diperiksa terlebih dahulu untuk memastikan tiada kebocoran dengan mengisikan air suling ke dalam acuan. Jika terdapat kebocoran, set acuan dibuka semula dan dipasang kembali. Jika tiada kebocoran, acuan dikeringkan menggunakan kertas turas. Larutan gel pemisah 10% atau 15% dipipet ke dalam acuan sehingga mencapai paras kira-kira 1 cm di bawah kedudukan telaga sampel. Seterusnya, lapisan nipis air suling ditambahkan di atas permukaan gel untuk menghasilkan permukaan gel yang rata. Gel pemisah dibiarkan mengeras selama 60 minit sebelum lapisan air suling dibuang. Selepas itu, larutan gel tindanan 5% dipipet ke dalam acuan sehingga penuh dan sikat telaga diletakkan dengan segera untuk membentuk telaga sampel. Gel tindanan dibiarkan mengeras selama 40 minit.

3.13.5 Penyediaan sampel protein

Sampel protein daripada homogenat testis yang disimpan pada suhu -80°C dibiarkan mencair pada suhu bilik. Sebanyak 50 μg protein dari setiap sampel digunakan. Penimbal pemuatan SDS 5X (Elabscience, China) ditambah ke dalam sampel protein dengan nisbah 1:9 dan dipanaskan pada suhu 95°C selama 10 minit untuk tujuan denaturasi protein. Campuran kemudiannya diemparkan pada 12000 rpm selama 30 saat.

3.13.6 Proses elektroforesis

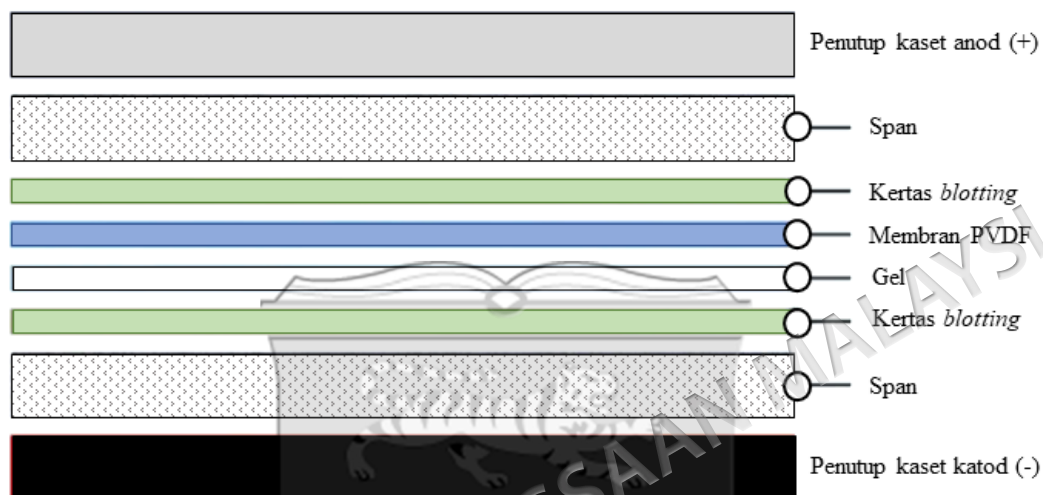
Gel yang telah mengeras diletakkan di dalam alat elektroforesis (Bio-Rad, USA) dan larutan larian tertimbang $1\times$ dimasukkan. Selepas itu, sikat telaga dicabut dan sampel protein sebanyak 10 μL dimasukkan ke dalam telaga yang terbentuk. Di samping itu, 5 μL penanda protein piawai AccuRuler RGB Plus Protein Ladder (Maestrogen, Taiwan) dimasukkan ke dalam salah satu telaga. Proses elektroforesis dimulakan pada 80 V selama 20 minit untuk menggerakkan protein melalui gel tindanan, diikuti 120 V selama 45 minit untuk memisahkan protein dalam gel pemisah.

3.13.7 Proses pemindahan protein dari gel ke membran

Proses pemindahan protein dari gel ke membran polyvinylidene fluoride (PVDF) dilakukan menggunakan kaedah lapisan bertindih (sandwic). Gel yang telah melalui proses elektroforesis dikeluarkan daripada acuan dan dipindahkan ke dalam bekas yang mengandungi larutan pemindah tertimbang $1\times$. Pada masa yang sama, membran PVDF direndam dalam metanol selama 1 minit, diikuti rendaman dalam larutan pemindah tertimbang selama 30 saat untuk mengaktifkan membran. Kedudukan span, kertas blotting, gel dan membran PVDF ditunjukkan dalam Rajah 3.18.

Selepas disusun, lapisan sandwic diapit menggunakan penutup kaset sebelum dimasukkan ke dalam tangki pemindahan mengikut kedudukan katod dan anod. Larutan pemindah tertimbang kemudian dituang sehingga meliputi keseluruhan kaset, dan proses pemindahan dijalankan pada 40 V selama 120 minit. Bagi memastikan keadaan pemindahan kekal sejuk, tangki pemindahan diletakkan di dalam bekas berisi ais.

Selepas pemindahan protein ke membran PVDF, membran dipotong secara melintang mengikut julat berat molekul yang dirujuk kepada penanda protein. Setiap segmen membran kemudian diinkubasi secara berasingan dengan antibodi primer yang sepadan. Sebagai contoh, segmen atas membran digunakan untuk pengesanan HSP90, manakala segmen bawah digunakan untuk pengesanan β -aktin.



Rajah 3.18 Susunan lapisan sandwich untuk proses pemindahan protein dari gel ke membran.

3.13.8 Proses pengesanan HSP90 melalui pemblotan Western

Selepas proses pemindahan protein selesai, segmen membran PVDF yang mengandungi julat berat molekul HSP90 diblok dengan larutan susu skim 5% dalam TBST selama 1 jam pada suhu bilik. Seterusnya, segmen membran tersebut diinkubasi semalaman pada suhu 4°C dengan antibodi primer poliklon arnab anti-HSP90 alpha (1:1000, Elabscience, China; Cat. No. E-AB-70141). Selepas inkubasi, membran dicuci sebanyak tiga kali menggunakan larutan TBST, masing-masing selama 15 minit. Membran kemudian diinkubasi dengan antibodi sekunder kambing anti-arnab IgG (H+L) berkonjugat HRP (1:5000, Elabscience, China; Cat. No. E-AB-1003) selama 1 jam pada suhu bilik. Jalur protein dikesan menggunakan kit substrat chemiluminesens ECL dan divisualisasikan menggunakan sistem pengimejan Amersham Imager 600.

3.13.9 Proses pengesanan HSP70 melalui pemblotan Western

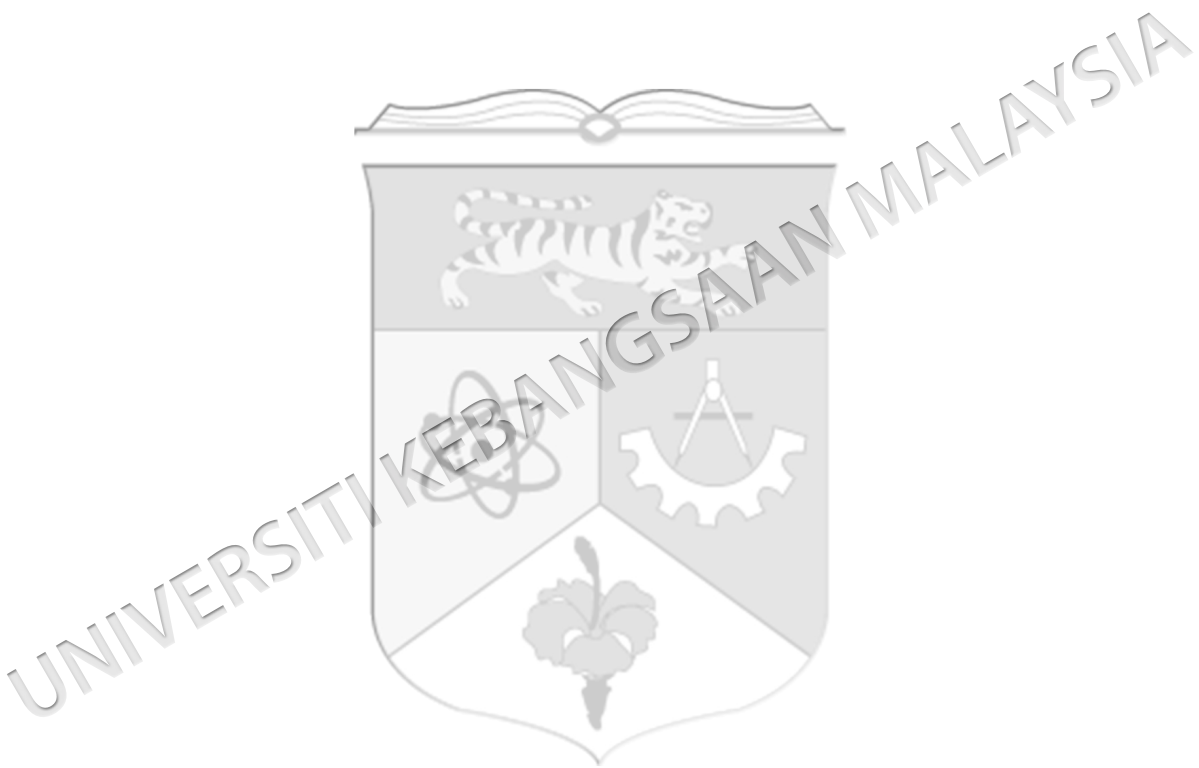
Prosedur yang sama seperti dalam Seksyen 3.13.8 diulangi, kecuali segmen membran PVDF yang sepadan dengan julat berat molekul HSP70 digunakan. Segmen membran diblok dengan larutan susu skim 5% dalam TBST selama 1 jam pada suhu bilik sebelum diinkubasi semalaman pada suhu 4°C dengan antibodi primer poliklon arnab anti-HSP70 (1:1000, Elabscience, China; Cat. No. E-AB-40490). Selepas pencucian menggunakan TBST, membran diinkubasi dengan antibodi sekunder kambing anti-arnab IgG (H+L) berkonjugat HRP (1:5000, Elabscience, China; Cat. No. E-AB-1003) selama 1 jam pada suhu bilik. Jalur protein kemudiannya dikesan menggunakan substrat chemiluminesens ECL dan divisualisasikan menggunakan sistem pengimejan yang sama.

3.13.10 Proses pengesanan HSP27 melalui pemblotan Western

Bagi analisis HSP27, protein dipisahkan menggunakan gel SDS-PAGE 15% untuk meningkatkan resolusi pemisahan protein berat molekul rendah sebelum dipindahkan ke membran PVDF. Segmen membran yang mengandungi julat berat molekul HSP27 diblok dengan larutan susu skim 5% dalam TBST selama 1 jam pada suhu bilik dan diinkubasi semalaman pada suhu 4°C dengan antibodi primer poliklon arnab anti-HSP27 (1:500, Elabscience, China; Cat. No. E-AB-31748). Selepas pencucian menggunakan TBST, membran diinkubasi dengan antibodi sekunder kambing anti-arnab IgG (H+L) berkonjugat HRP (1:5000, Elabscience, China; Cat. No. E-AB-1003) selama 1 jam pada suhu bilik. Jalur protein kemudiannya dikesan menggunakan substrat chemiluminesens ECL dan divisualisasikan menggunakan sistem pengimejan Amersham Imager 600.

3.13.11 Analisis

Bagi pengesanan protein penyelenggara, segmen membran PVDF yang sepadan dengan julat berat molekul β -aktin diinkubasi secara berasingan dengan antibodi β -aktin berkonjugat HRP (1:1000, Abcam, UK; Cat. No. ab49900). Imej jalur protein dianalisis secara densitometri menggunakan perisian Image Lab (Bio-Rad, USA). Nilai intensiti bagi setiap protein sasaran dinormalisasikan terhadap β -aktin sebagai kawalan pemuatan dalaman dan keputusan dinyatakan sebagai ekspresi relatif protein bagi setiap kumpulan eksperimen.



3.14 ANALISIS SITOKIN RADANG MELALUI *ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY* (ELISA)

Dalam kajian ini, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) digunakan untuk mengukur aras sitokin radang TNF- α , IL-6, IL-1 β , dan IL-10 dalam homogenat testis tikus. Secara ringkas, 0.3 g tisu testis dihomogenkan dalam larutan PBS sejuk yang mengandungi phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) sebagai perencat protease. Homogenat kemudiannya diempar pada 12,000 rpm selama 15 minit pada suhu 4°C, dan supernatan yang terhasil digunakan untuk analisis ELISA mengikut arahan pengeluar kit (Elabscience, Wuhan, China). Plat ELISA tersebut kemudiannya dibaca menggunakan mesin spektrofotometer SpectraMax Plus 384 Microplate (Molecular Devices, California, USA) pada jarak gelombang 450 nm. Kepekatan sitokin yang diperoleh daripada lengkung piawai ELISA terlebih dahulu dinyatakan sebagai pg/mL. Kepekatan protein bagi supernatan homogenat testis PBS yang sama ditentukan menggunakan asai BCA. Seterusnya, aras sitokin dinormalisasikan kepada jumlah protein dalam ekstrak PBS dan dinyatakan sebagai pg/mg protein menggunakan formula:

Aras sitokin ternormalisasi = kepekatan sitokin (pg/mL) $\div$ kepekatan protein ekstrak PBS (mg/mL).

3.15 ANALISIS EKSPRESI PENANDA APOPTOSIS MELALUI UJIAN TUNEL *IN SITU*

3.15.1 Penyediaan slaid testis

Proses ini dimulakan dengan fiksasi testis tikus semasa nekropsi. Testis yang dikeluarkan dibilas dengan larutan PBS dan kemudian direndam dalam larutan 10% formalin berpenimbal untuk tujuan fiksasi. Seterusnya, pemprosesan tisu dijalankan melalui langkah penyahhidratan, pencerahan dan impregnasi. Kesemua langkah ini dilakukan secara automatik menggunakan mesin pemprosesan tisu semalaman. Setelah pemprosesan selesai, testis dibenam dalam lilin parafin menggunakan mesin pembenam tisu. Testis diletakkan di dalam acuan pembenam yang berisi lilin parafin dan dibiarkan membeku di atas permukaan ais. Blok tisu yang telah mengeras kemudian dikeluarkan daripada acuan dan disimpan pada suhu 4°C sehingga digunakan untuk proses hirisan. Blok tisu dipotong menggunakan mikrotom (Leica Microsystems, Jerman) pada ketebalan 3 µm. Hirisan tisu diapungkan di atas permukaan air pada suhu 40°C sebelum dipindahkan ke slaid poli-L-lisina (Thermo Scientific, USA). Slaid kemudiannya dikeringkan menggunakan plat pengering tisu XH-2001 (C&A Scientific-Premiere, USA) pada suhu 60°C sehingga kering, diikuti dengan proses nyahparafin sebelum pewarnaan dilakukan.

3.15.2 Pengesanan apoptosis melalui ujian TUNEL

Kit *One-step TUNEL In Situ Apoptosis* (Elabscience, China) digunakan untuk mengesan apoptosis dalam tisu testis melalui pengikatan penanda fluorezen kepada DNA yang terfragmentasi. Semua prosedur dijalankan mengikut protokol yang dibekalkan oleh pengeluar kit. Selepas proses pewarnaan, sampel diperiksa menggunakan mikroskop fluorezen pada pembesaran 200×. Nukleus yang menunjukkan isyarat fluorezen hijau (FITC) dikenal pasti sebagai sel TUNEL-positif, manakala semua nukleus dikenal pasti melalui pewarnaan DAPI. Indeks apoptotik dikira dengan membahagikan bilangan sel TUNEL-positif dengan jumlah keseluruhan nukleus, kemudian didarab dengan 100. Nilai akhir dinyatakan sebagai peratusan apoptosis mengikut formula berikut:

$$\text{Indeks Apoptotik (\%)} = (\text{Bilangan sel TUNEL-positif} / \text{Jumlah keseluruhan nukleus}) \times 100$$

Kuantifikasi dilakukan pada sekurang-kurangnya lima medan pandang rawak bagi setiap sampel. Imej dianalisis menggunakan perisian ImageJ (National Institutes of Health, USA) untuk kuantifikasi isyarat fluorezen dan pengiraan sel.

3.16 ANALISIS EKSPRESI PENANDA APOPTOSIS MELALUI TINDAK BALAS RANTAIAN POLIMERASE KUANTITATIF TRANSKRIPSI BERBALIK (RT-qPCR)

RT-qPCR dijalankan menggunakan qPCRBIO SyGreen Blue Mix (PCR Biosystems, London, UK) mengikut arahan pengeluar. Setiap tindak balas RT-qPCR mempunyai isipadu akhir 10 μ L di mana ia terdiri daripada 5 μ L 2 $\times$ SyGreen Blue Mix, 0.4 μ L primer hadapan (10 μ M), 0.4 μ L primer belakang (10 μ M), 1 μ L templat cDNA dan air bebas nuklease ditambah sehingga mencapai isipadu akhir. Semua tindak balas disediakan dalam tiga ulangan teknikal dan dimuatkan ke dalam plat 96-telaga. Program amplifikasi dimulakan dengan pengaktifan enzim pada suhu 95°C selama 2 minit, diikuti 40 kitaran denaturasi pada suhu 95°C selama 5 saat dan penyepuhlandapan/pemanjangan pada suhu 60°C selama 20 saat. Isyarat fluoresen SyGreen direkodkan pada akhir setiap langkah pemanjangan. Gen sasaran yang dianalisis ialah *Tp53*, *Bcl2*, *Bax*, dan *Casp3*, manakala *Actb* dan *Ccna2* digunakan sebagai gen rujukan.

3.16.1 Pengekstrakan RNA daripada testis

Sebanyak 30 mg tisu testis daripada setiap ekor tikus digunakan untuk mengekstrak RNA. Tisu testis yang telah ditimbang, dicampurkan dengan larutan lisis tertimbang, lalu dikisar menggunakan mesin homogenat tisu. Selepas itu, tisu diproses untuk menyingkir DNA dan mengekstrak RNA berpandukan tatacara *Total RNA Extraction Kit NucleoSpin® RNA* (Macherey-Nagel, Jerman). Kawalan kualiti sampel RNA dilakukan dengan mengukur kepekatan dan ketulenan RNA menggunakan mesin nanodrop. Nilai serapan pada 260 nm vs 280 nm atau nisbah A260/A280 diguna pakai untuk menilai kualiti RNA. Sampel yang mempunyai bacaan 2.0-2.1 dianggap sebagai RNA yang mempunyai kualiti yang baik.

3.16.2 Sintesis cDNA

Sintesis cDNA dilakukan dengan berdasarkan protokol kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis (Thermo Scientific, USA). Sebanyak 1 μ g templat RNA dicampurkan bersama 1 μ L oligo (dT)₁₈ primer di dalam air bebas nuklease yang ditambah bagi membentuk isipadu akhir 12 μ L. Campuran ini diinkubasikan pada suhu 65°C selama

5 minit dan kemudian disejukkan pada ais selama sekurang-kurangnya 1 minit. Ringkasan penyediaan campuran induk (*master mix*) adalah seperti dalam Jadual 3.10. Seterusnya, tambah campuran induk yang mengandungi 4 μL 5X Reaction Buffer, 1 μL RiboLock RNase Inhibitor (20 U/ μL), 2 μL 10 mM dNTP Mix dan 1 μL RevertAid M-MuLV RT (200 U/ μL) ke dalam campuran tersebut, menjadikan jumlah isipadu akhir kepada 20 μL . Campuran ini kemudian diinkubasi pada suhu 42°C selama 60 minit untuk sintesis cDNA. Akhir sekali, tindak balas dihentikan pada suhu 70°C selama 5 minit. cDNA yang terhasil disimpan pada suhu -20°C sehingga analisis dijalankan.

Jadual 3.10 Penyediaan campuran induk bagi sintesis cDNA.

Komponen	Isipadu (μL)
5X Reaction Buffer	4.0
RiboLock RNase Inhibitor (20 U/ μL)	1.0
10 mM dNTP Mix	2.0
RevertAid M-MuLV RT (200 U/ μL)	1.0

3.16.3 Pelaksanaan RT-qPCR

Tindak balas RT-qPCR dijalankan mengikut tatacara protokol qPCRBIO SyGreen Blue Mix (PCR Biosystems, UK). Reagen yang digunakan di dalam pelaksanaan RT-qPCR ini adalah: 5 μL qPCRBIO SyGreen Mix, 0.4 μL primer ke hadapan (10 μM), 0.4 μL primer ke belakang (10 μM) dan 1 μL cDNA, diikuti dengan air bebas nuklease sehingga jumlah keseluruhan mencapai 10 μL . Campuran ini kemudian diagihkan ke dalam telaga-telaga pada plat 96-telaga. Setiap sampel diulang sebanyak tiga kali.

Plat 96-telaga kemudiannya dimasukkan ke dalam sistem qPCR masa nyata CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, USA) untuk proses amplifikasi dan pengesanan isyarat fluoresens. Tetapan program bermula daripada inkubasi awal pada suhu 95°C selama 2 minit untuk pengaktifan enzim polimerase, diikuti dengan 40 kitaran denaturasi DNA pada suhu 95°C selama 5 saat dan penyepulih-indapan pada suhu 60°C selama 20 saat. Semasa kitaran ini, isyarat fluoresen SyGreen direkodkan pada akhir langkah penyepuhlindapan/pemanjangan bagi menghasilkan nilai Ct untuk analisis ekspresi relatif gen. Jujukan primer ke hadapan dan ke belakang bagi gen penanda apoptosis, iaitu *Tp53*, *Bax*, *Bcl2* dan *Casp3*, serta gen jaga selia, iaitu *Actb* dan *Ccna2*, disenaraikan dalam Jadual 3.11.

Jadual 3.11 Jujukan primer yang digunakan untuk RT-qPCR.

Gen	Jujukan Primer 5'-3' Kod primer	ID Gen NCBI
<i>Tp53</i>	Ke Hadapan TCCGACTATACCACTATCCACTAC Ke Belakang GCACAAACACGAACCTCAAAG	NM_030989
<i>Casp3</i>	Ke Hadapan CCGACATCTGTGTGACTTCAC Ke Belakang CGTACAGTTTCAGCACATGG	NM_012922
<i>Bax</i>	Ke Hadapan CGCGGTTGCTGTTGAT Ke Belakang AAGGCTCAGGCCCATCTTCT	NM_017059
<i>Bcl2</i>	Ke Hadapan GATGACTGAGTACCTGAACC Ke Belakang CCAGGAGAATCAAAAGGGT	NM_016993
<i>Actb</i>	Ke Hadapan TGCATAGGCAATGAGCGG Ke Belakang GGCATAGGCTTCTTACGGA	NM_031144
<i>Ccna2</i>	Ke Hadapan AGGGAAATGGAGGTTAAATG Ke Belakang CTATCAATGTAGTTCACAGCC	NM_053702

3.16.4 Analisis RT-qPCR

Nilai ambang kitaran (Ct) yang diperoleh disaring terlebih dahulu dengan menyingkirkan bacaan terasing, iaitu bacaan yang melebihi julat 0.5 daripada purata nilai Ct bagi tiga ulangan teknikal. Purata nilai Ct kemudian dikira bagi setiap sampel testis dan gen yang diuji. Perubahan ekspresi relatif mRNA bagi gen *Tp53*, *Bax*, *Bcl2*, dan *Casp3* ditentukan menggunakan kaedah $2^{-\Delta\Delta Ct}$ selepas nilai Ct dinormalisasikan terhadap purata dua gen rujukan iaitu *Actb* dan *Ccna2*. Dalam analisis ini, kumpulan kawalan digunakan sebagai kalibrator dan hasil akhir dinyatakan sebagai perubahan lipatan ekspresi gen sasaran berbanding kumpulan kawalan.

3.17 ANALISIS PARAMETER SPERMA

Analisis parameter sperma dilakukan untuk tujuan menilai kesan dedahan terhadap kepekatan sperma, motiliti sperma dan daya hidup sperma.

3.17.1 Pengumpulan sperma

Sperma dikumpulkan daripada epididimis kauda. Epididimis kauda dicincang dan dimasukkan ke dalam 2 mL larutan PBS yang telah dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 37°C. Campuran ini kemudiannya dipipet beberapa kali menggunakan pipet Pasteur bagi membantu pelepasan sperma ke dalam larutan. Seterusnya, campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 minit sebelum digunakan untuk analisis parameter sperma.

3.17.2 Kepekatan sperma

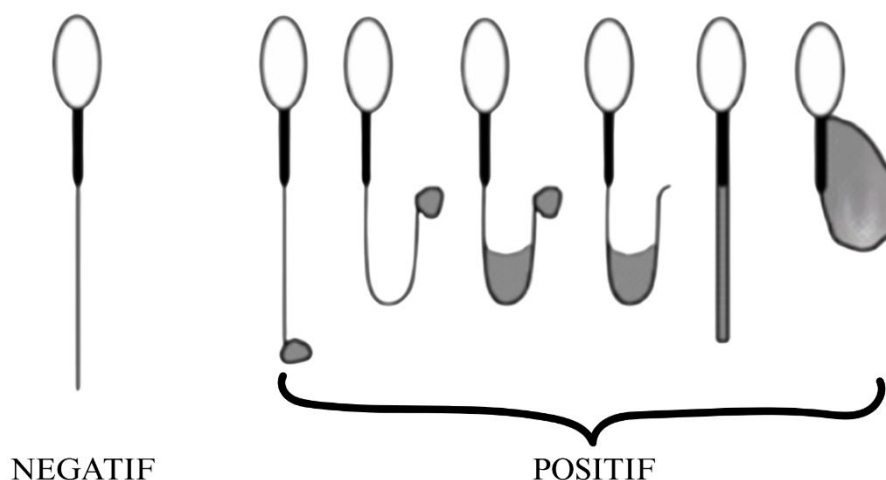
Selepas pengeraman selama 45 minit pada suhu 37°C, sebanyak 10 µL alikuot ampaian sperma dimuatkan ke dalam kebuk pengiraan Makler (Sefi Medical Instruments, Israel), dan penutup kaca diletakkan secara berhati-hati. Ampaian sperma diperiksa di bawah mikroskop cahaya Olympus CX31 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) pada pembesaran 20×, dan bilangan sperma dikira dalam sepuluh grid bagi setiap titisan. Pengiraan dilakukan secara duplikasi, dan purata daripada dua titisan tersebut digunakan sebagai nilai akhir. Nilai tersebut dinyatakan sebagai kepekatan sperma dalam unit juta sperma per mililiter ($\times 10^6/\text{mL}$).

3.17.3 Motiliti sperma

Motiliti sperma dinilai menggunakan kategori operasional motiliti progresif (PR), motiliti tidak progresif (NP), dan tidak motil (IM) mengikut kriteria Pertubuhan Kesihatan Sedunia (World Health Organization 2010). Sebanyak 10 μ L alikuot ampaian sperma dititiskan pada slaid kaca dan ditutup dengan sisip kaca. Pemerhatian dilakukan di bawah mikroskop cahaya pada pembesaran 40 $\times$. Sekurang-kurangnya 200 spermatozoa dikira dalam sekurang-kurangnya lima medan rawak bagi setiap ulangan untuk mengurangkan ralat pensampelan. Pengiraan diulangi menggunakan titisan baharu daripada sampel yang sama. Peratus motiliti sperma dikira sebagai jumlah spermatozoa PR dan NP dibahagikan dengan jumlah keseluruhan spermatozoa yang dikira kemudian didarab dengan 100%.

3.17.4 Daya hidup sperma

Spermatozoa yang menunjukkan pembengkakan atau lengkungan pada ekor diklasifikasikan sebagai HOST-positif iaitu menunjukkan membran plasma yang berfungsi, manakala spermatozoa yang mengekalkan ekor lurus diklasifikasikan sebagai HOST-negatif. Larutan HOST disediakan dengan melarutkan 0.735 g natrium sitrat dihidrat (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) dan 1.351 g D-fruktosa (Sigma-Aldrich, UK) dalam 100 mL air suling. Sampel sperma dicampurkan ke dalam larutan HOST pada nisbah 1:10 dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 minit. Selepas inkubasi, sebanyak 10 μ L campuran disapu pada slaid kaca bersih untuk penyediaan calitan. Calitan dibiarkan kering pada suhu bilik sebelum diwarnakan menggunakan kit pewarnaan Kwik-Diff (Epredia, USA) bagi meningkatkan visualisasi morfologi sperma. Penilaian dilakukan di bawah mikroskop cahaya pada pembesaran 40 $\times$ dengan memerhati 200 spermatozoa bagi setiap calitan. Spermatozoa yang menunjukkan pembengkakan atau lengkungan pada ekor dikira sebagai hidup, manakala spermatozoa yang mengekalkan ekor lurus dikira sebagai mati (Rajah 3.19). Pengiraan diulangi menggunakan calitan kedua daripada sampel yang sama. Purata dua pengiraan dilaporkan sebagai nilai daya hidup sperma.



Rajah 3.19 Perwakilan skematik perubahan morfologi tipikal pada sperma tikus yang tertakluk kepada pembengkakan hipo-osmotik (HOST). Spermatozoa diklasifikasikan sebagai negatif (tidak menunjukkan perubahan bentuk ekor) atau positif (menunjukkan pembengkakan atau lengkungan pada ekor sebagai respons terhadap larutan hipo-osmotik). Peratus spermatozoa HOST-positif digunakan sebagai anggaran daya hidup sperma berdasarkan ketahanan fungsi membran plasma.

3.18 ANALISIS STATISTIK

Semua analisis statistik dijalankan menggunakan perisian GraphPad Prism versi 10 (GraphPad Software, USA). Ujian normaliti Shapiro-Wilk digunakan untuk menentukan taburan data sebelum pemilihan ujian parametrik. Analisis statistik dilakukan secara berasingan bagi setiap tempoh dedahan iaitu 1 jam/hari dan 7 jam/hari. Dalam setiap tempoh dedahan, ANOVA sehala digunakan untuk menilai perbezaan antara kumpulan sham, 3.5 GHz, dan 24 GHz bagi aras HSP, aras sitokin radang, indeks apoptosis, ekspresi gen apoptosis dan parameter kualiti sperma. Oleh sebab analisis dijalankan secara berasingan mengikut tempoh dedahan, perbandingan statistik utama dalam kajian ini tertumpu kepada perbezaan antara kumpulan dalam tempoh dedahan yang sama, dan bukan kepada ujian formal interaksi antara frekuensi dan tempoh dedahan. Ujian perbandingan berbilang Tukey digunakan sebagai analisis pasca hoc. Semua data dinyatakan sebagai min $\pm$ ralat piawai min (SEM) dan nilai $p < 0.05$ dianggap signifikan secara statistik.

BAB IV

HASIL KAJIAN

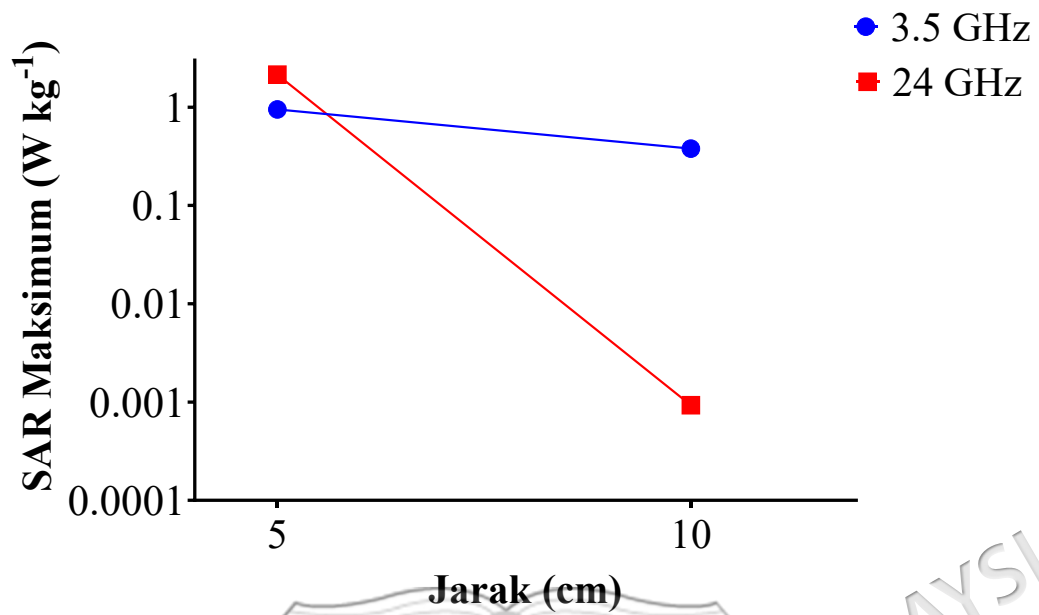
4.1 ANALISIS SAR DAN TABURAN PEMENDAPAN KUASA

Nilai SAR maksimum dan SAR keseluruhan telah ditentukan menggunakan model voksel tikus bagi dua frekuensi iaitu 3.5 GHz dan 24 GHz, pada jarak 5 cm dan 10 cm antara antenna dan model. Di samping itu, anggaran SAR pada jarak 20 cm, iaitu jarak antenna-ke-sangkar yang digunakan dalam eksperimen biologi, diperoleh melalui ekstrapolasi hukum kuasa tempatan berdasarkan nilai simulasi pada 5 cm dan 10 cm. Bagi frekuensi 24 GHz, nilai SAR dan peta pemendapan kuasa yang dilaporkan perlu ditafsir sebagai hasil daripada model antenna mikrojalur dalam simulasi, dan bukan sebagai pengukuran atau simulasi langsung bagi modul HLK-LD2420 yang digunakan dalam dedahan *in vivo*.

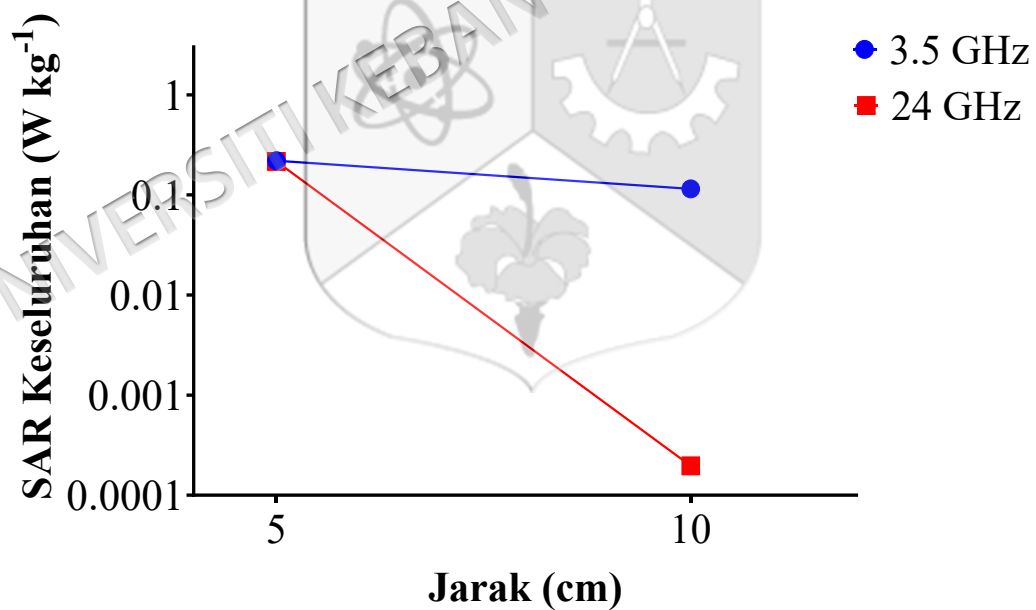
Rajah 4.1 menunjukkan perubahan nilai SAR maksimum pada jarak 5 cm dan 10 cm mengikut frekuensi. Pada frekuensi 3.5 GHz, nilai SAR maksimum menurun daripada 0.95 W kg^{-1} pada jarak 5 cm kepada 0.38 W kg^{-1} pada jarak 10 cm. Pada frekuensi 24 GHz, nilai SAR maksimum ialah 2.15 W kg^{-1} pada jarak 5 cm dan menurun dengan ketara kepada $9.29 \times 10^{-4} \text{ W kg}^{-1}$ pada jarak 10 cm. Berdasarkan ekstrapolasi, anggaran SAR maksimum pada jarak 20 cm ialah 0.15 W kg^{-1} bagi 3.5 GHz dan $4.00 \times 10^{-7} \text{ W kg}^{-1}$ bagi 24 GHz. Pada jarak 5 cm, SAR maksimum lebih tinggi pada 24 GHz berbanding 3.5 GHz, manakala pada jarak 10 cm dan anggaran 20 cm, nilai ini lebih tinggi pada 3.5 GHz berbanding 24 GHz.

Rajah 4.2 menunjukkan perubahan nilai SAR keseluruhan pada jarak 5 cm dan 10 cm bagi frekuensi yang sama. Pada frekuensi 3.5 GHz, nilai SAR keseluruhan menurun daripada 0.22 W kg^{-1} pada jarak 5 cm kepada 0.12 W kg^{-1} pada jarak 10 cm. Pada frekuensi 24 GHz, nilai SAR keseluruhan ialah 0.22 W kg^{-1} pada jarak 5 cm dan menurun kepada $1.97 \times 10^{-4} \text{ W kg}^{-1}$ pada jarak 10 cm. Berdasarkan ekstrapolasi, anggaran SAR keseluruhan pada jarak 20 cm ialah 0.06 W kg^{-1} bagi 3.5 GHz dan $1.80 \times 10^{-7} \text{ W kg}^{-1}$ bagi 24 GHz. Pada jarak 5 cm, nilai SAR keseluruhan adalah hampir sama antara 3.5 GHz dan 24 GHz, manakala pada jarak 10 cm dan anggaran 20 cm, nilai ini lebih tinggi pada 3.5 GHz berbanding 24 GHz.

Secara keseluruhannya, kedua-dua metrik menunjukkan penurunan apabila jarak antara antenna dan model meningkat. Anggaran SAR pada 20 cm mencadangkan bahawa tahap penyerapan tenaga pada geometri eksperimen sebenar adalah lebih rendah berbanding jarak 5 cm dan 10 cm bagi kedua-dua frekuensi dengan nilai pada 3.5 GHz kekal lebih tinggi berbanding 24 GHz. Walau bagaimanapun, nilai pada 20 cm hendaklah ditafsir sebagai anggaran dosimetri setempat yang diperoleh melalui ekstrapolasi daripada simulasi 5 cm dan 10 cm dan bukan sebagai simulasi langsung pada keseluruhan geometri medan dekat.

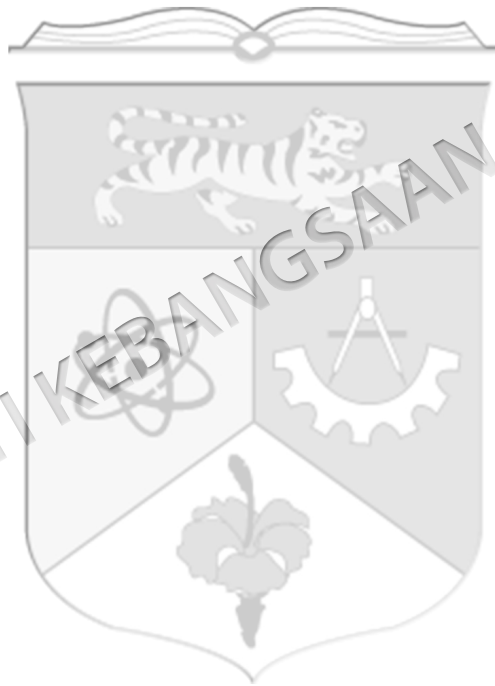


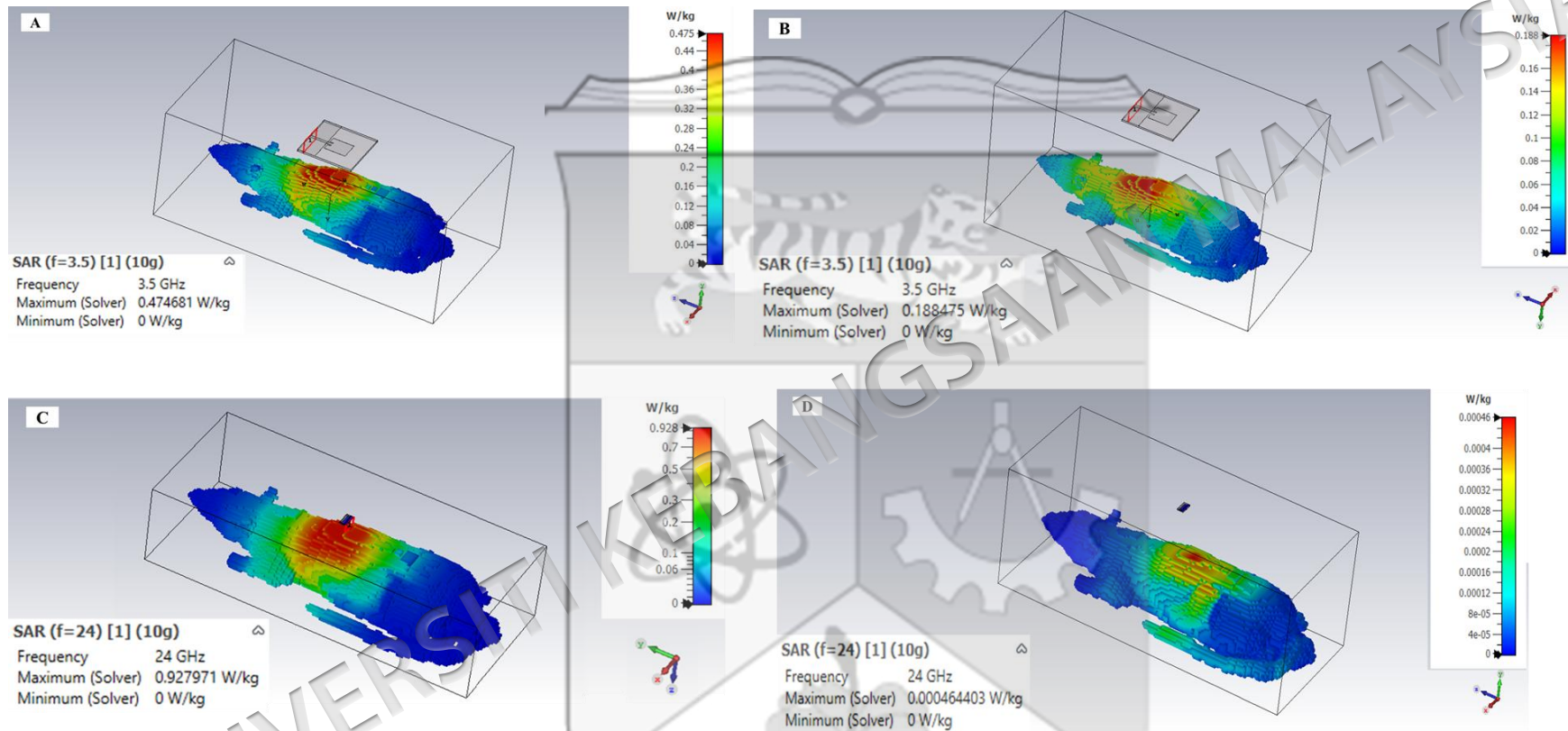
Rajah 4.1 Perubahan SAR maksimum (W kg^{-1}) mengikut jarak antena 5 dan 10 cm pada 3.5 GHz dan 24 GHz. Data diplot dengan menggunakan skala logaritma $\log_{10}$.



Rajah 4.2 Perubahan SAR keseluruhan (W kg^{-1}) mengikut jarak antena 5 dan 10 cm pada 3.5 GHz dan 24 GHz. Data diplot dengan menggunakan skala logaritma $\log_{10}$.

Taburan pemendapan kuasa daripada simulasi pada frekuensi 3.5 GHz ditunjukkan dalam Rajah 4.3A dan 4.3B. Rajah ini menunjukkan bahawa tenaga RF-EMF menembusi lebih mendalam dan melibatkan kawasan badan yang lebih luas dengan taburan tenaga yang masih ketara pada jarak 10 cm. Bagi frekuensi 24 GHz, Rajah 4.3C dan 4.3D menunjukkan pemendapan tenaga yang lebih tertumpu pada lapisan permukaan berhampiran tapak dedahan dan tenaga berkurang dengan sangat ketara apabila jarak antenna meningkat daripada 5 cm kepada 10 cm. Secara keseluruhannya, visualisasi pemendapan kuasa menunjukkan bahawa 3.5 GHz menghasilkan taburan tenaga yang lebih mendalam dan meluas berbanding 24 GHz, manakala 24 GHz menunjukkan pemendapan tenaga yang lebih tertumpu pada kawasan permukaan model..



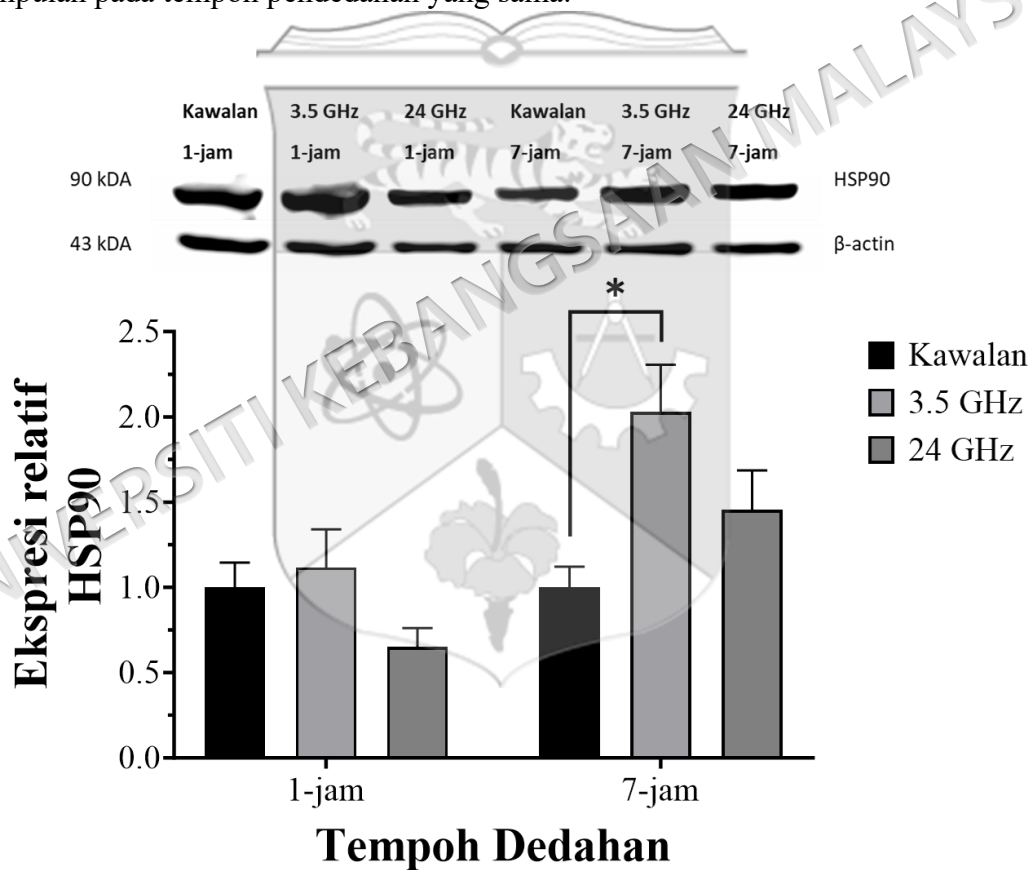


Rajah 4.3 Visualisasi pemendapan kuasa merentasi model voksel tikus. (A) 3.5 GHz pada jarak 5 cm. (B) 3.5 GHz pada jarak 10 cm. (C) 24 GHz pada jarak 5 cm. (D) 24 GHz pada jarak 10 cm.

4.2 EKSPRESI PROTEIN KEJUTAN HABA (HSP)

4.2.1 HSP90

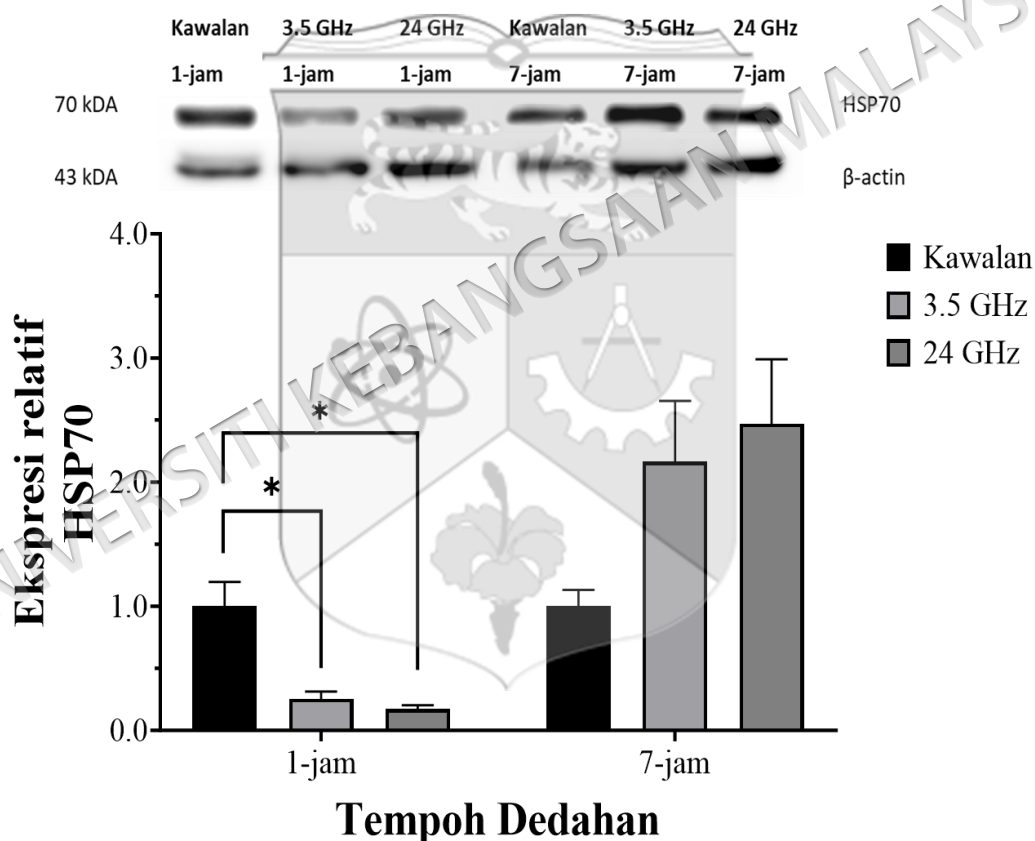
Rajah 4.4 menunjukkan jalur dan graf bar bagi ekspresi relatif HSP90 dalam tisu testis untuk kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz pada tempoh pendedahan 1 jam dan 7 jam. Pada tempoh dedahan 1 jam, tiada perbezaan signifikan antara mana-mana kumpulan. Pada tempoh dedahan 7 jam, ekspresi HSP90 adalah lebih tinggi secara signifikan dalam kumpulan 3.5 GHz (2.028 ± 0.278) berbanding kumpulan kawalan (1.002 ± 0.120 , $p < 0.05$). Namun, kumpulan 24 GHz tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan berbanding kawalan. Tiada perbezaan signifikan lain dikesan antara kumpulan pada tempoh pendedahan yang sama.



Rajah 4.4 Ekspresi relatif protein HSP90 dalam kumpulan kawalan dan kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n = 6$). Data ditunjukkan sebagai min $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama.

4.2.2 HSP70

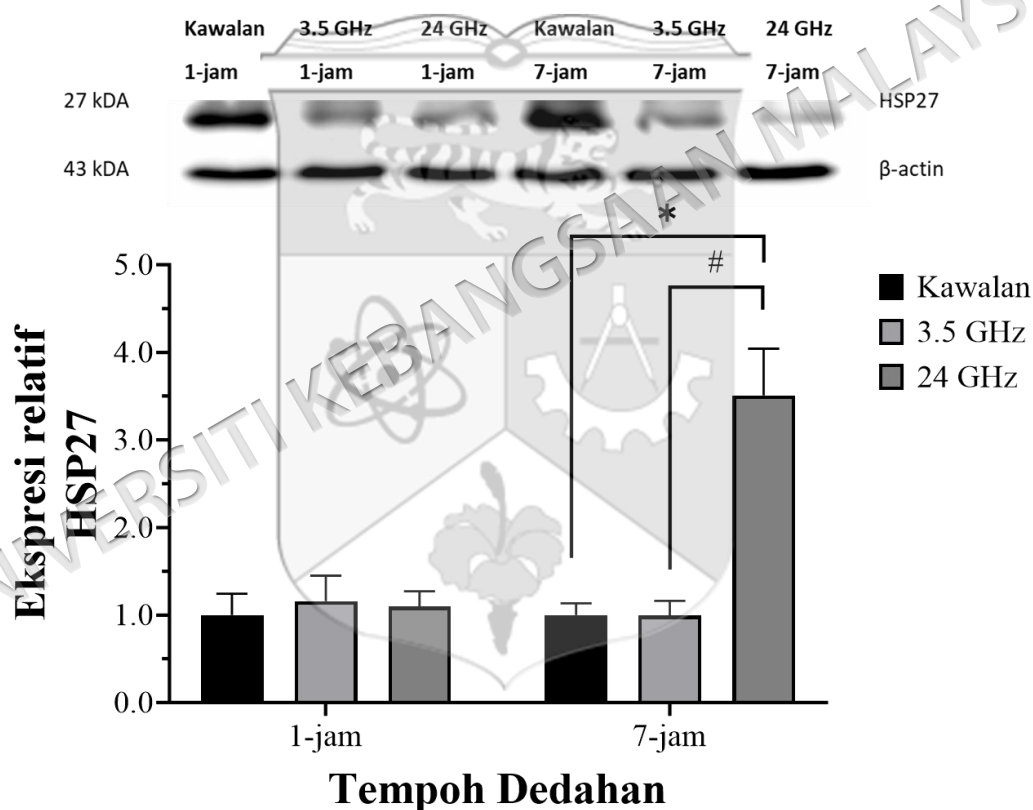
Rajah 4.5 menunjukkan jalur dan graf bar bagi ekspresi relatif HSP70. Pada tempoh dedahan 1 jam, ekspresi HSP70 lebih rendah secara signifikan dalam kumpulan 3.5 GHz (0.254 ± 0.061) berbanding kumpulan kawalan (1.000 ± 0.197 , $p < 0.05$). Ekspresi HSP70 dalam kumpulan 24 GHz (0.173 ± 0.030) juga lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan (1.000 ± 0.197 , $p < 0.05$). Pada tempoh dedahan 7 jam, tiada perbezaan dikesan antara kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz.



Rajah 4.5 Ekspresi relatif protein HSP70 dalam kumpulan kawalan dan kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n = 6$). Data ditunjukkan sebagai min $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama.

4.2.3 HSP27

Rajah 4.6 menunjukkan jalur dan graf bar bagi ekspresi relatif HSP27 dalam tisu testis. Pada tempoh dedahan 1 jam, ekspresi HSP27 tidak berbeza secara signifikan antara kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz. Pada tempoh dedahan 7 jam, ekspresi HSP27 meningkat dengan signifikan dalam kumpulan 24 GHz (3.507 ± 0.534) berbanding kumpulan kawalan (1.000 ± 0.134 , $p < 0.05$). Ekspresi HSP27 dalam kumpulan 24 GHz juga lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz (0.993 ± 0.170 , $p < 0.05$). Tiada perbezaan signifikan antara kumpulan kawalan dan 3.5 GHz pada tempoh 7 jam.



Rajah 4.6 Ekspresi relatif protein HSP27 dalam kumpulan kawalan dan kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n = 6$). Data ditunjukkan sebagai min $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama.

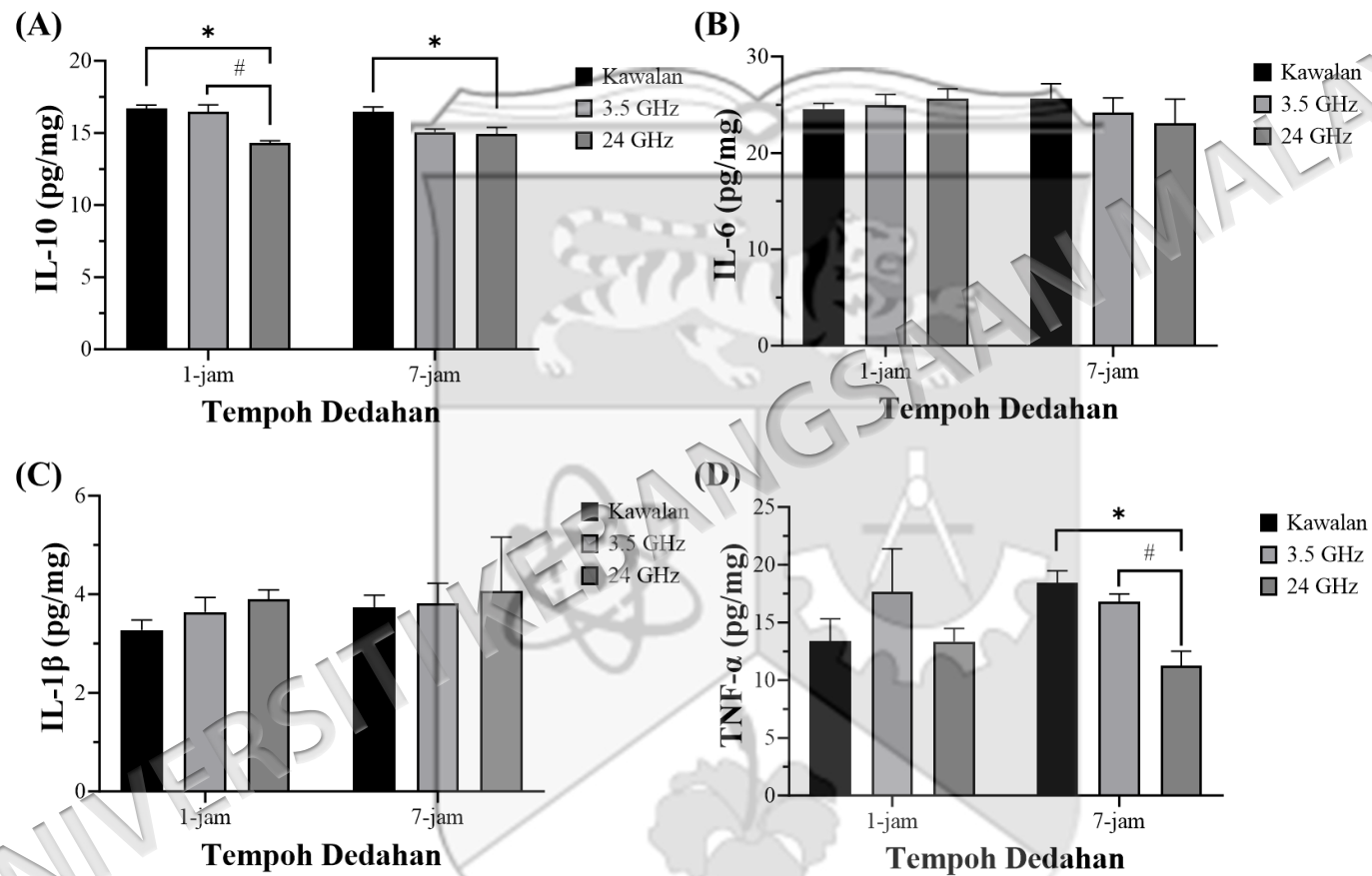
4.3 ARAS SITOKIN RADANG

Rajah 4.7(A) menunjukkan tahap ekspresi sitokin radang IL-10 dalam tisu testis bagi kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz selepas dedahan selama 1 jam dan 7 jam. Selepas 1 jam dedahan, kumpulan 24 GHz menunjukkan tahap IL-10 yang lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan (14.30 ± 0.17 berbanding 16.69 ± 0.25 , $p < 0.05$) dan kumpulan 3.5 GHz (14.30 ± 0.17 berbanding 16.46 ± 0.49 , $p < 0.05$). Selepas 7 jam dedahan, tahap IL-10 dalam kumpulan 24 GHz juga didapati lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan (14.92 ± 0.46 berbanding 16.46 ± 0.35 , $p < 0.05$). Namun demikian, tiada perbezaan signifikan diperhatikan antara kumpulan 3.5 GHz dan kumpulan kawalan pada tempoh 7 jam.

Rajah 4.7(B) menunjukkan tahap IL-6 dalam semua kumpulan. Tiada perbezaan signifikan dalam tahap IL-6 antara kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz pada tempoh dedahan 1 jam dan 7 jam.

Rajah 4.7(C) menunjukkan perubahan tahap IL-1 β . Tiada perbezaan signifikan dalam tahap IL-1 β antara kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz pada tempoh dedahan 1 jam dan 7 jam.

Rajah 4.7(D) menunjukkan tahap TNF- α . Pada tempoh dedahan 1 jam, tiada perbezaan signifikan dalam tahap TNF- α antara mana mana kumpulan. Pada tempoh dedahan 7 jam, tahap TNF- α dalam kumpulan 24 GHz (11.25 ± 1.26) lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan (18.43 ± 1.05 , $p < 0.05$). Tahap TNF- α dalam kumpulan 24 GHz juga lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz (16.77 ± 0.69 , $p < 0.05$). Tiada perbezaan signifikan lain direkodkan bagi TNF- α .



Rajah 4.7 Aras sitokin radang ternormalisasi dalam testis tikus selepas 60 hari pendedahan RF-EMF pada 3.5 atau 24 GHz selama 1 jam sehari atau 7 jam sehari. Graf bar menunjukkan min $\pm$ SEM (A–C) $n = 5-6$, (D) ($n = 4-6$). (A) IL-10: kumpulan 24 GHz lebih rendah berbanding kumpulan kawalan dan kumpulan 3.5 GHz pada 1 jam dan lebih rendah berbanding kumpulan kawalan pada 7 jam. (B) IL-6: tiada perbezaan pada mana-mana tempoh. (C) IL-1 β : tiada perbezaan pada mana-mana tempoh. (D) TNF- α : kumpulan 24 GHz lebih rendah berbanding kumpulan kawalan dan kumpulan 3.5 GHz pada 7 jam. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama.

4.4 ANALISIS PENANDA APOPTOSIS

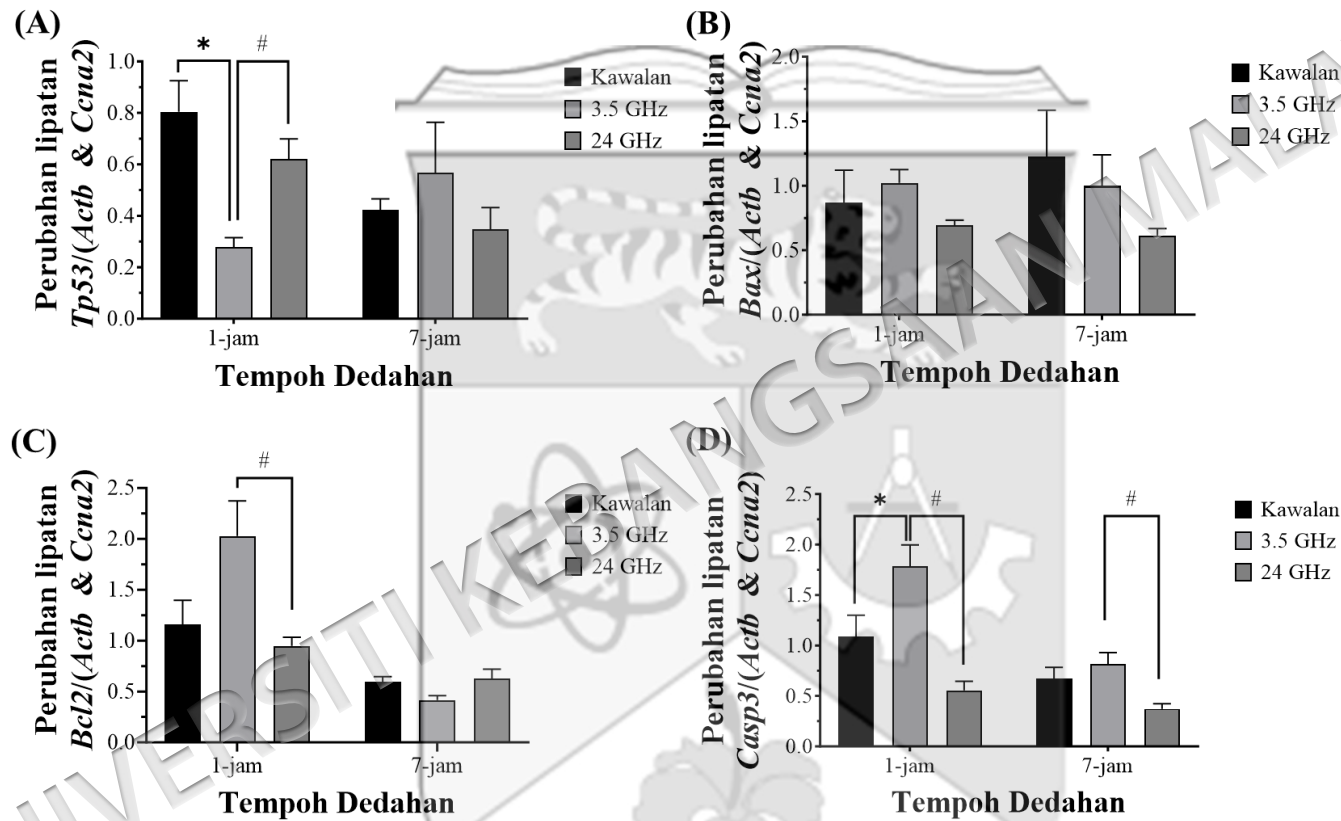
4.4.1 Ekspresi gen apoptosis

Rajah 4.8(A) menunjukkan perubahan lipatan ekspresi gen Tp53 dalam tisu testis bagi kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz pada tempoh pendedahan 1 jam dan 7 jam. Pada tempoh dedahan 1 jam, ekspresi Tp53 dalam kumpulan 3.5 GHz (0.279 ± 0.036) lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan (0.804 ± 0.121 , $p < 0.05$). Ekspresi Tp53 dalam kumpulan 24 GHz (0.621 ± 0.078 , $p < 0.05$) juga lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz. Tiada perbezaan signifikan direkodkan antara mana-mana kumpulan pada tempoh dedahan 7 jam.

Rajah 4.8(B) menunjukkan ekspresi gen Bax. Tiada perbezaan signifikan dalam ekspresi Bax antara semua kumpulan pada kedua-dua tempoh dedahan.

Rajah 4.8(C) menunjukkan perubahan lipatan ekspresi gen Bcl2. Pada tempoh dedahan 1 jam, ekspresi Bcl2 dalam kumpulan 24 GHz (0.946 ± 0.087) lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz (2.028 ± 0.344 , $p < 0.05$). Tiada perbezaan signifikan direkodkan antara mana-mana kumpulan pada tempoh dedahan 7 jam.

Rajah 4.8(D) menunjukkan perubahan lipatan ekspresi gen Casp3. Pada tempoh dedahan 1 jam, ekspresi Casp3 dalam kumpulan 3.5 GHz (1.783 ± 0.213) lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan kawalan (1.086 ± 0.213 , $p < 0.05$). Ekspresi Casp3 dalam kumpulan 24 GHz (0.554 ± 0.089 , $p < 0.05$) juga lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz. Pada tempoh dedahan 7 jam, ekspresi Casp3 kekal lebih rendah dalam kumpulan 24 GHz (0.372 ± 0.050) berbanding kumpulan 3.5 GHz (0.814 ± 0.115 , $p < 0.05$). Tiada perbezaan signifikan direkodkan berbanding kumpulan kawalan pada tempoh dedahan 7 jam.

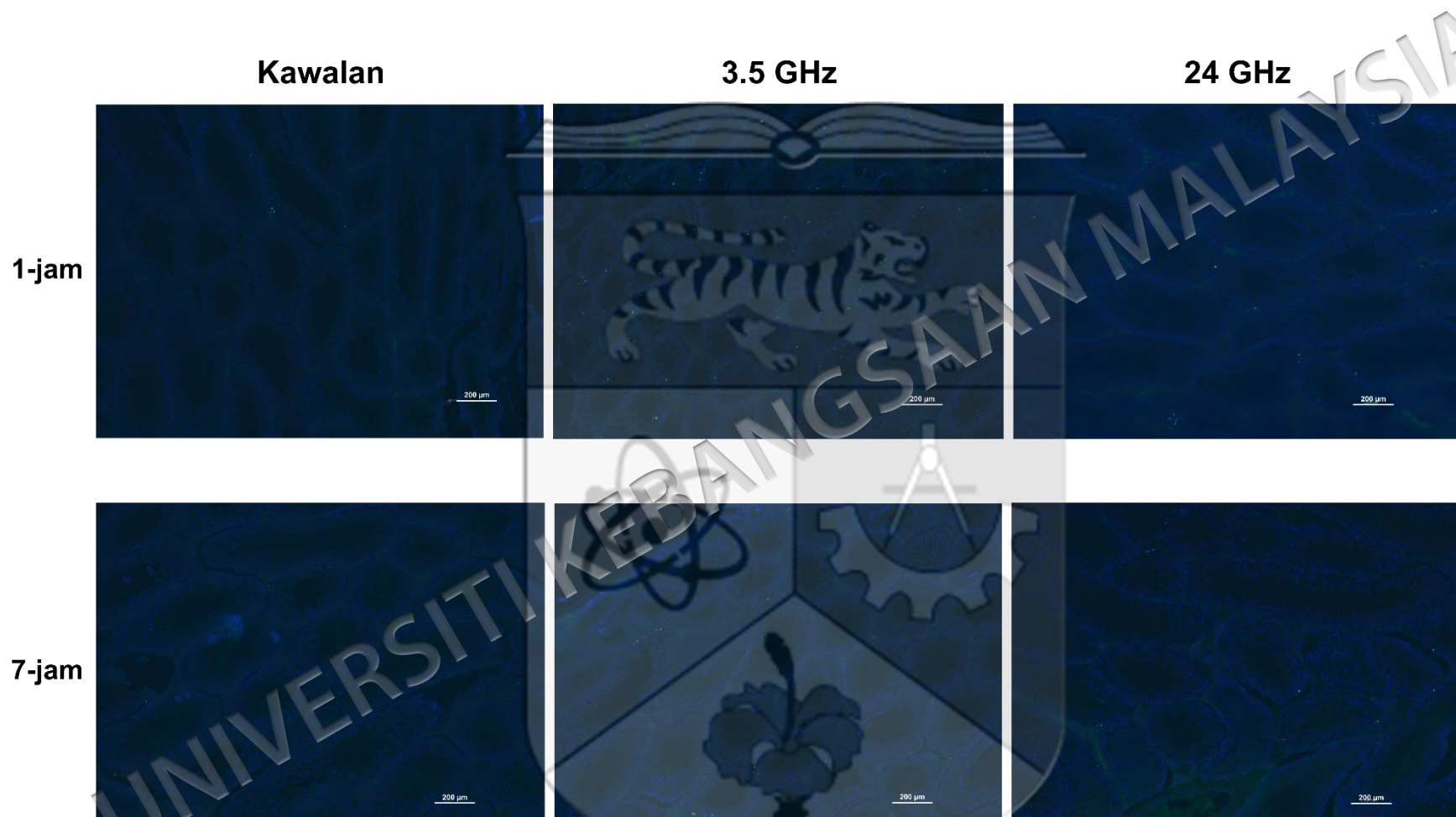


Rajah 4.8 Perubahan lipatan dalam ekspresi mRNA berkaitan apoptosis dalam testis tikus selepas 60 hari pendedahan RF-EMF pada 3.5 atau 24 GHz selama 1 jam sehari atau 7 jam sehari. Graf bar menunjukkan min $\pm$ SEM ($n = 5-6$). (A) *Tp53*: kumpulan 3.5 GHz lebih rendah berbanding kumpulan kawalan pada 1 jam dan kumpulan 24 GHz lebih tinggi berbanding kumpulan 3.5 GHz pada 1 jam, tiada perbezaan dikesan pada 7 jam. (B) *Bax*: tiada perbezaan pada mana-mana tempoh. (C) *Bcl2*: kumpulan 3.5 GHz lebih tinggi berbanding kumpulan 24 GHz pada 1 jam, tiada perbezaan pada 7 jam. (D) *Casp3*: kumpulan 3.5 GHz lebih tinggi berbanding kumpulan kawalan pada 1 jam dan lebih tinggi berbanding kumpulan 24 GHz pada kedua-dua tempoh. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama.

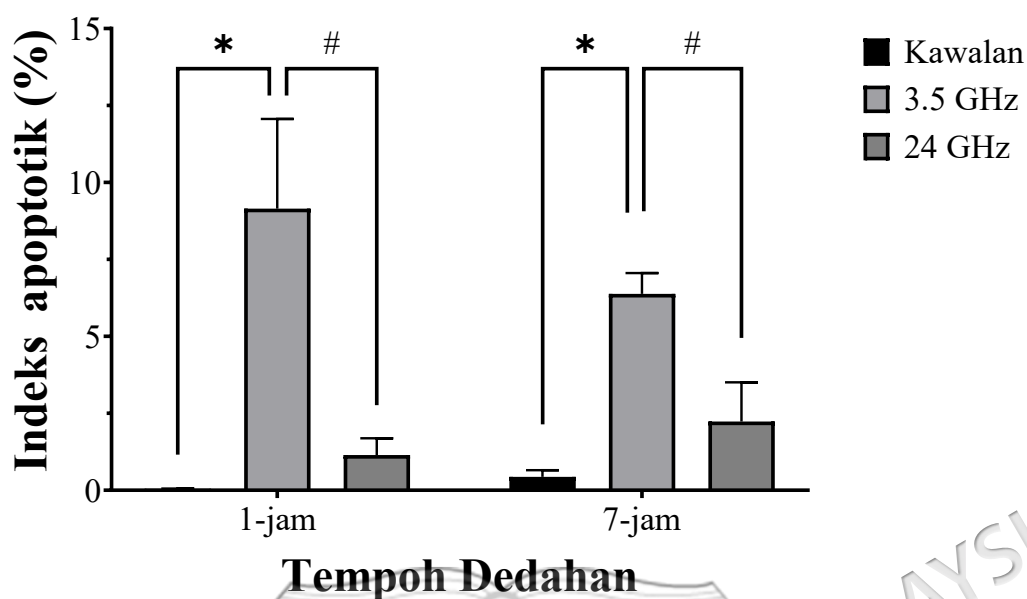
4.4.2 Indeks Apoptotik

Rajah 4.9 menunjukkan imej wakilan pewarnaan TUNEL pada tisu testis tikus bagi kumpulan kawalan sham, 3.5 GHz dan 24 GHz selepas pendedahan selama 1 jam dan 7 jam. Nukleus sel ditunjukkan oleh fluoresens biru, manakala sel TUNEL-positif ditunjukkan oleh isyarat fluoresens hijau. Secara visual, isyarat TUNEL-positif lebih ketara dalam imej wakilan kumpulan 3.5 GHz pada tempoh pendedahan 1 jam berbanding kumpulan kawalan sham dan 24 GHz. Isyarat TUNEL-positif juga dapat diperhatikan dalam kumpulan 3.5 GHz selepas pendedahan selama 7 jam. Sebaliknya, imej wakilan kumpulan kawalan sham dan 24 GHz bagi kedua-dua tempoh pendedahan menunjukkan isyarat TUNEL-positif yang lebih rendah. Pemerhatian ini seterusnya dinilai secara kuantitatif berdasarkan indeks apoptosis.

Rajah 4.10 menunjukkan peratusan indeks apoptotik dalam tisu testis bagi kumpulan kawalan, 3.5 GHz, dan 24 GHz selepas dedahan selama 1 jam dan 7 jam. Selepas 1 jam dedahan, kumpulan 3.5 GHz mencatatkan indeks apoptotik yang lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan kawalan ($9.15 \pm 1.91\%$ berbanding $0.05 \pm 0.01\%$, $p < 0.05$). Pada tempoh yang sama, kumpulan 24 GHz menunjukkan indeks apoptotik yang lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz ($1.15 \pm 1.91\%$ berbanding $9.15 \pm 1.91\%$, $p < 0.05$). Selepas 7 jam dedahan, kumpulan 3.5 GHz sekali lagi menunjukkan indeks apoptotik yang lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan kawalan ($6.38 \pm 1.91\%$ berbanding $0.43 \pm 1.91\%$, $p < 0.05$). Kumpulan 24 GHz juga merekodkan indeks apoptotik yang lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz pada tempoh ini ($2.24 \pm 1.91\%$ berbanding $6.38 \pm 1.91\%$, $p < 0.05$). Tiada perbezaan signifikan diperhatikan bagi perbandingan lain.



Rajah 4.9 Imej wakilan pewarnaan TUNEL pada tisu testis tikus bagi kumpulan kawalan sham, 3.5 GHz dan 24 GHz selepas pendedahan selama 1 jam dan 7 jam. Baris atas menunjukkan kumpulan kawalan sham 1 jam, 3.5 GHz 1 jam dan 24 GHz 1 jam, manakala baris bawah menunjukkan kumpulan kawalan sham 7 jam, 3.5 GHz 7 jam dan 24 GHz 7 jam. Nukleus diwarnakan biru dengan DAPI, manakala sel TUNEL-positif ditunjukkan oleh isyarat fluoresens hijau. Pembesaran imej pada 20 $\times$; bar skala = 200 μ m.

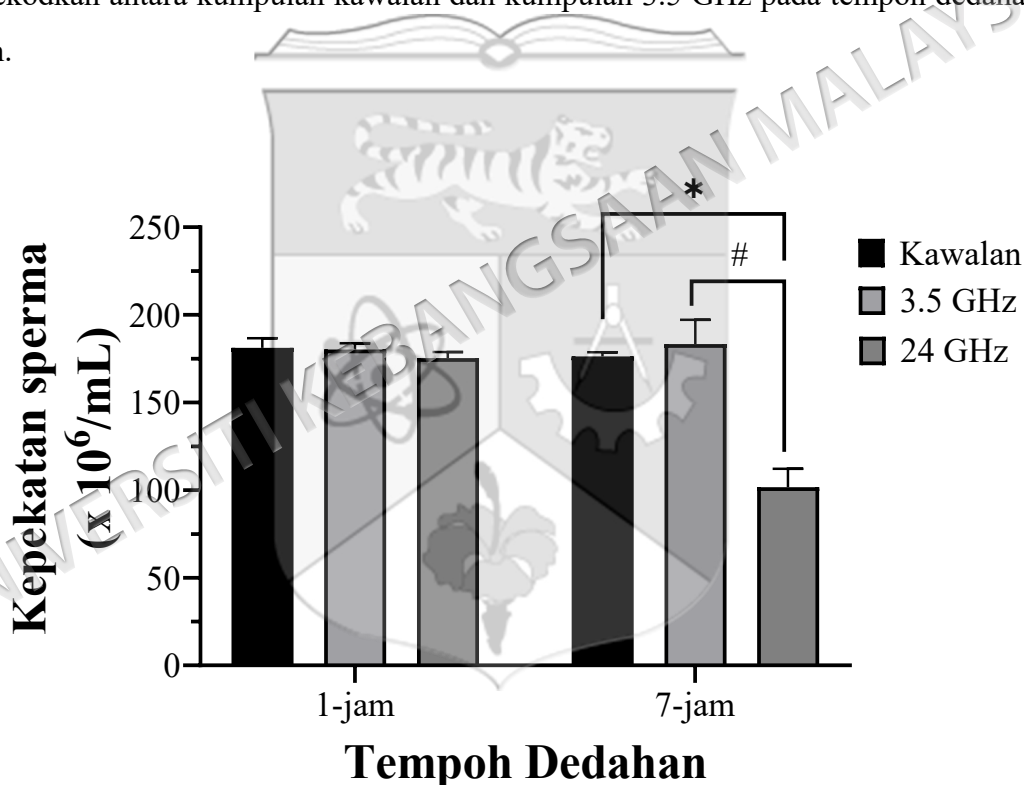


Rajah 4.10 Peratusan indeks apoptotik dalam kumpulan kawalan serta kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n=6$). Data dinyatakan dalam min $\pm$ SEM. * merujuk kepada perbezaan signifikan ($p < 0.05$) berbanding kawalan. # merujuk kepada perbezaan signifikan ($p < 0.05$) berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh sama.

4.5 KUALITI SPERMA

4.5.1 Kepekatan sperma

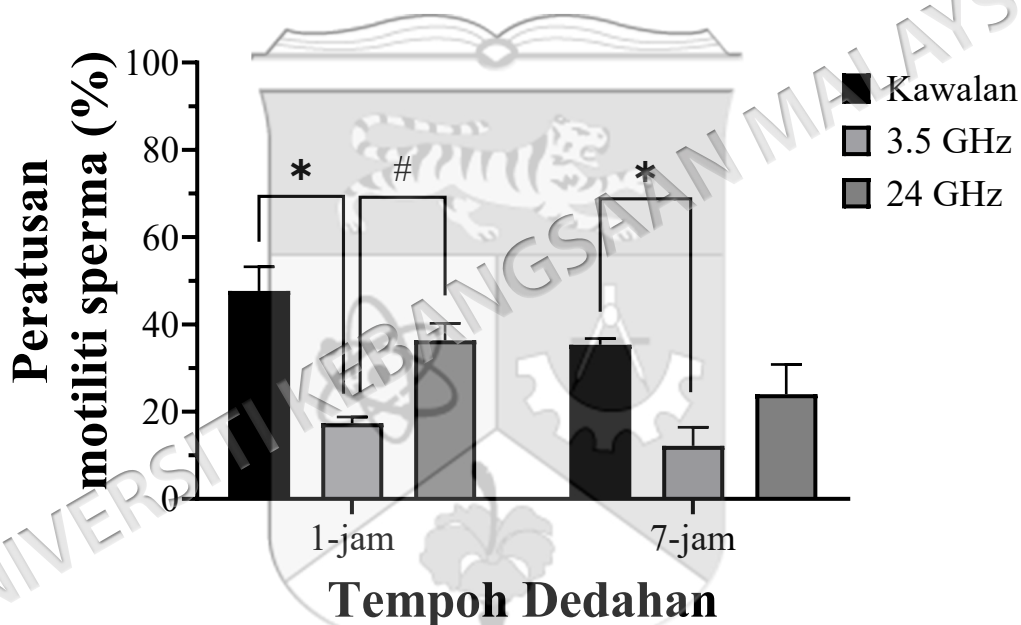
Rajah 4.11 menunjukkan perubahan kepekatan sperma selepas tempoh dedahan 1 jam dan 7 jam. Pada tempoh dedahan 1 jam, tiada perbezaan signifikan dalam kepekatan sperma antara kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz. Pada tempoh dedahan 7 jam, kepekatan sperma dalam kumpulan 24 GHz ($101.7 \pm 10.6 \times 10^6/\text{mL}$) lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan ($176.3 \pm 2.39 \times 10^6/\text{mL}$, $p < 0.05$). Kepekatan sperma dalam kumpulan 24 GHz juga lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz ($183.3 \pm 13.8 \times 10^6/\text{mL}$, $p < 0.05$). Tiada perbezaan signifikan direkodkan antara kumpulan kawalan dan kumpulan 3.5 GHz pada tempoh dedahan 7 jam.



Rajah 4.11 Kepekatan sperma ($\times 10^6/\text{mL}$) dalam kumpulan kawalan serta kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n=6$). Data dinyatakan dalam min $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama.

4.5.2 Motiliti sperma

Rajah 4.12 menunjukkan perubahan motiliti sperma bagi kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz pada tempoh dedahan 1 jam dan 7 jam. Pada tempoh dedahan 1 jam, motiliti sperma dalam kumpulan 3.5 GHz ($17.33 \pm 1.43\%$) lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan ($47.67 \pm 5.53\%$, $p < 0.05$). Motiliti sperma dalam kumpulan 24 GHz ($36.33 \pm 3.92\%$, $p < 0.05$) juga lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz. Pada tempoh dedahan 7 jam, motiliti sperma dalam kumpulan 3.5 GHz ($12.17 \pm 4.25\%$) kekal lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan ($35.33 \pm 1.41\%$, $p < 0.05$).

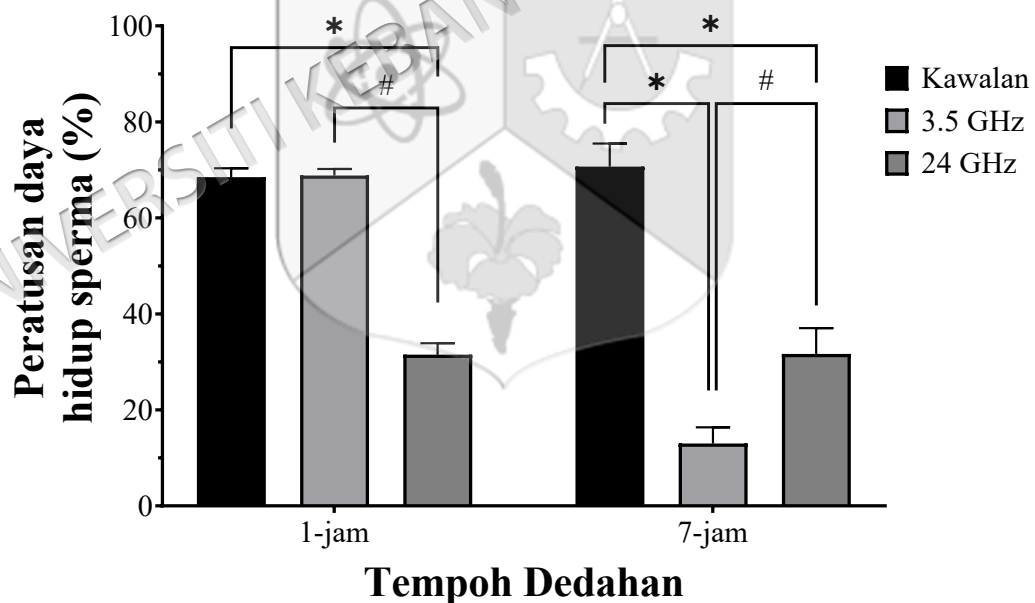


Rajah 4.12 Peratusan motiliti sperma (%) dalam kumpulan kawalan serta kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n=6$). Data dinyatakan dalam min $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama

4.5.3 Daya hidup sperma

Rajah 4.13 menunjukkan perubahan daya hidup sperma bagi kumpulan kawalan, 3.5 GHz dan 24 GHz pada tempoh dedahan 1 jam dan 7 jam. Pada tempoh dedahan 1 jam, daya hidup sperma dalam kumpulan 24 GHz ($31.50 \pm 2.39\%$) lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan ($68.50 \pm 1.86\%$, $p < 0.05$). Daya hidup sperma dalam kumpulan 24 GHz juga lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz ($68.83 \pm 1.35\%$, $p < 0.05$).

Pada tempoh dedahan 7 jam, daya hidup sperma dalam kumpulan 3.5 GHz ($13.00 \pm 3.37\%$) lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan ($70.67 \pm 4.82\%$, $p < 0.05$). Daya hidup sperma dalam kumpulan 24 GHz ($31.67 \pm 5.38\%$) juga lebih rendah secara signifikan berbanding kumpulan kawalan ($70.67 \pm 4.82\%$, $p < 0.05$). Selain itu, daya hidup sperma dalam kumpulan 24 GHz ($31.67 \pm 5.38\%$) lebih tinggi secara signifikan berbanding kumpulan 3.5 GHz ($13.00 \pm 3.37\%$, $p < 0.05$).



Rajah 4.13 Peratusan daya hidup sperma (%) dalam kumpulan kawalan serta kumpulan yang terdedah kepada frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz selama 1 jam dan 7 jam ($n=6$). Data dinyatakan dalam min $\pm$ SEM. * $p < 0.05$ berbanding kumpulan kawalan pada tempoh yang sama dan # $p < 0.05$ berbanding kumpulan frekuensi pada tempoh yang sama.

4.6 RINGKASAN CORAK HASIL KAJIAN

 PENDEDAHAN RF-EMF 3.5 GHz & 24 GHz  60 HARI					
 Tikus Sprague-Dawley jantan dewasa 6 subkumpulan, n=6/subkumpulan, N=36 (200-250 g, 6-10 minggu)					
DOSIMETRI	Pemendapan tenaga (mengikut frekuensi)	3.5 GHz Lebih mendalam dan meluas		24 GHz Lebih superfisial	
Tempoh pendedahan harian		1 JAM	7 JAM	1 JAM	7 JAM
 PROTEIN KEJUTAN HABA (HSP)	HSP90	↔	↑	↔	↔
	HSP70	↓	↔	↓	↔
	HSP27	↔	↔	↔	↑
 PROFIL SITOKIN TESTIS	IL-10	↔	↔	↓	↓
	IL-6	↔	↔	↔	↔
	IL-1β	↔	↔	↔	↔
	TNF-α	↔	↔	↔	↓
 APOPTOSIS (qPCR & TUNEL)	Tp53	↓	↔	↔	↔
	Bax	↔	↔	↔	↔
	Bcl2	↔	↔	↔	↔
	Casp3	↑	↔	↔	↔
TUNEL / Indeks apoptotik		↑	↑	↔	↔
 KUALITI SPERMA	Kepekatan sperma	↔	↔	↔	↓
	Motiliti sperma	↓	↓	↔	↔
	Daya hidup sperma	↔	↓	↓	↓
Petunjuk: ↑ Meningkat signifikan ↓ Menurun signifikan ↔ Tiada perubahan signifikan					

Rajah 4.14 Peta ringkasan hubungan antara pola pemendapan tenaga, tindak balas protein kejutan haba, modulasi sitokin radang, apoptosis dan kualiti sperma selepas pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz selama 60 hari. Simbol ↑ menunjukkan peningkatan signifikan, ↓ menunjukkan penurunan signifikan dan ↔ menunjukkan tiada perubahan signifikan berbanding kumpulan kawalan sham mengikut tempoh pendedahan yang sama.

BAB V

PERBINCANGAN

5.1 HUBUNGAN DOSIMETRI DENGAN PENEMBUSAN TISU

Dalam kajian ini, dua parameter dosimetri telah dinilai, iaitu SAR maksimum 10 g, yang merujuk kepada nilai puncak penyerapan tenaga dalam jisim tisu terpurata 10 g, dan SAR keseluruhan badan, yang menggambarkan penyerapan tenaga secara menyeluruh dalam model tikus. Simulasi SAR dalam kajian ini menunjukkan perbezaan yang jelas antara pendedahan 3.5 GHz dan 24 GHz. Secara umum, corak dosimetri ini menunjukkan bahawa 24 GHz menumpukan pemendapan tenaga terutamanya pada lapisan permukaan, manakala 3.5 GHz menembusi lebih dalam dan melibatkan isipadu tisu yang lebih besar. Perbezaan ini menunjukkan bahawa kedua-dua frekuensi tidak hanya berbeza dari segi magnitud penyerapan tenaga, tetapi juga dari segi corak taburan tenaga dalam tisu. Oleh itu, RF-EMF 3.5 GHz berpotensi melibatkan kompartmen testis yang lebih dalam berbanding 24 GHz, manakala RF-EMF 24 GHz lebih cenderung menghasilkan pendedahan yang tertumpu pada lapisan permukaan. Corak ini sejajar dengan kajian dosimetri terdahulu yang melaporkan bahawa frekuensi sub-6 GHz mempunyai keupayaan penembusan yang lebih mendalam berbanding gelombang milimeter, yang lazimnya menunjukkan penyerapan tenaga yang tertumpu pada permukaan tisu (Biowei, Adekola & Amusa 2024; Colombi *et al.* 2018; Deaconescu & Miclăuş 2020; Gultekin & Siegel 2020).

Perbezaan ini konsisten dengan sifat fizikal penembusan tenaga bagi frekuensi sub-6 GHz dan gelombang milimeter. Secara umum, pendedahan pada 3.5 GHz masih membolehkan penembusan yang lebih mendalam dan berpotensi mencapai struktur tisu yang lebih dalam, manakala tenaga pada frekuensi melebihi 20 GHz tertumpu terutamanya pada lapisan permukaan, khususnya epidermis dan dermis. Oleh itu, pemanasan yang terhasil pada frekuensi gelombang milimeter berlaku hampir

sepenuhnya di permukaan, manakala perubahan suhu pada struktur yang lebih dalam adalah jauh lebih kecil, selaras dengan kajian pemodelan pada 24 hingga 28 GHz (Gultekin & Siegel 2020; Hirata *et al.* 2021). Dapatan ini turut disokong oleh kajian simulasi terkini yang melaporkan bahawa penembusan tenaga 24 hingga 45 GHz pada kulit, kornea, dan enamel adalah terhad kepada lapisan tisu permukaan (Adekola, Amusa & Biowei 2025; Biowei, Adekola & Amusa 2024). Kajian pemodelan haba menunjukkan bahawa pada frekuensi melebihi 6 GHz, perubahan suhu yang paling besar berlaku di permukaan kulit, manakala perubahan suhu dalam struktur dalaman adalah sangat kecil. Dalam julat ini, kenaikan suhu permukaan didapati berkadar rapat dengan ketumpatan kuasa yang dipindah atau diserap di permukaan tisu tersebut (Diao, Rashed & Hirata 2020; Funahashi *et al.* 2018; Miura *et al.* 2021). Selaras dengan ini, garis panduan ICNIRP (2020) menggunakan ketumpatan kuasa yang diserap (*absorbed power density*, APD) sebagai kuantiti asas bagi pendedahan setempat melebihi 6 GHz kerana metrik ini lebih berkait secara langsung dengan kenaikan suhu permukaan berbanding SAR pada frekuensi tinggi (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020; Lemay *et al.* 2022).

Data kajian ini juga menunjukkan sensitiviti jarak yang berbeza antara kedua-dua frekuensi. Bagi 24 GHz, kedua-dua metrik dosimetri berkurang dengan ketara apabila jarak antara antena dan model ditingkatkan daripada 5 cm kepada 10 cm. Corak ini selaras dengan kajian simulasi terdahulu yang melaporkan bahawa APD dan kenaikan suhu kulit bagi gelombang milimeter merosot dengan cepat apabila jarak bertambah, walaupun hanya beberapa sentimeter (Colombi *et al.* 2018; Diao, Rashed & Hirata 2020; Lee, Hong & Moon 2024; Miura *et al.* 2021). Dalam konteks ini, kewujudan titik panas SAR setempat di permukaan, bersama-sama dengan nilai SAR keseluruhan badan yang hampir sifar pada jarak 10 cm, menyokong tafsiran bahawa kesan pemanasan pada 24 GHz lebih tertumpu pada lapisan permukaan dan hanya sedikit melibatkan tisu yang lebih dalam. Tafsiran ini konsisten dengan pendekatan ICNIRP yang menggunakan APD sebagai kuantiti asas bagi penilaian pendedahan setempat melebihi 6 GHz (ICNIRP 2020; Lemay *et al.* 2022). Sebaliknya, pada 3.5 GHz, pengurangan SAR apabila jarak ditingkatkan adalah lebih kecil. Corak ini menunjukkan bahawa sebahagian tenaga RF masih berupaya menembusi melepasi kulit dan tisu bawah kulit, lalu melibatkan struktur yang lebih dalam, termasuk kawasan

testis. Hal ini selaras dengan kajian model penembusan 3 hingga 4 GHz yang melaporkan kedalaman penyerapan pada julat beberapa milimeter hingga sentimeter dalam tisu lembut dan organ dalaman (Deaconescu & Miclăuş 2020; Gultekin & Siegel 2020). Oleh itu, perbezaan corak dosimetri antara 3.5 GHz dan 24 GHz berkemungkinan menjadi asas kepada perbezaan tindak balas biologi yang diperhatikan dalam kajian ini, termasuk perubahan ekspresi protein kejutan haba, modulasi sitokin anti-radang, pengaktifan laluan apoptosis dan akhirnya gangguan fungsi sperma. Tafsiran ini selaras dengan bukti sintesis terkini yang menunjukkan bahawa pendedahan RF-EMF berpotensi mempengaruhi tisu testis, tekanan oksidatif dan kualiti sperma, walaupun tahap kepastian bukti masih dipengaruhi oleh keseragaman reka bentuk kajian, dosimetri dan risiko pincang (Assefa & Abdu 2025; Cordelli *et al.* 2024; Meyer *et al.* 2024).

5.2 TINDAK BALAS PROTEIN KEJUTAN HABA SEBAGAI PENANDA STRES SELULAR

Rajah 4.4 hingga Rajah 4.6 menunjukkan bahawa corak tindak balas protein kejutan haba dalam testis berbeza mengikut frekuensi dan tempoh pendedahan. Selepas pendedahan 1 jam, perubahan utama ialah penurunan HSP70 pada kedua-dua frekuensi, manakala HSP90 dan HSP27 kekal hampir pada aras kawalan. Corak ini mencerminkan perubahan awal homeostasis protein yang belum berkembang kepada induksi HSP yang lebih khusus. Selepas pendedahan 7 jam, tindak balas HSP didapati berbeza antara kedua-dua frekuensi. Peningkatan HSP90 pada kumpulan 3.5 GHz mencadangkan bahawa tekanan selular yang berlaku mungkin lebih berkait dengan beban homeostasis protein yang berpanjangan dalam tisu yang menerima pemendapan tenaga lebih mendalam. Sebaliknya, peningkatan HSP27 pada kumpulan 24 GHz lebih konsisten dengan tindak balas perlindungan selular yang melibatkan kestabilan sitoskeleton, tindak balas terhadap tekanan oksidatif dan modulasi apoptosis. Dapatan ini menunjukkan bahawa frekuensi 3.5 GHz dan 24 GHz berkemungkinan mencetuskan corak adaptasi tekanan yang berbeza, sejajar dengan perbezaan penembusan tenaga dan lokasi pemendapan tenaga yang diperhatikan dalam analisis SAR.

Pada tempoh pendedahan 1 jam, penemuan utama dalam kajian ini ialah penurunan ekspresi HSP70 pada kedua-dua frekuensi, iaitu 3.5 GHz dan 24 GHz.

HSP70 merupakan salah satu keluarga HSP utama yang berfungsi sebagai protein pengiring molekul (*molecular chaperone*) dan membantu mengekalkan homeostasis protein semasa tekanan selular (Liu *et al.* 2024). Dalam sistem reproduktif jantan, HSP70-2 telah dikaitkan dengan spermatogenesis, fungsi sperma, kematangan sperma dan keupayaan persenyawaan (Rosyada *et al.* 2022). Oleh itu, penurunan HSP70 pada 1 jam dalam kajian ini mungkin mencerminkan perubahan awal dalam homeostasis protein dan tindak balas pengiring molekul. Walau bagaimanapun, mekanisme yang mendasari penurunan HSP70 ini masih tidak dapat dipastikan kerana kajian ini tidak menilai faktor pengawalseliaan seperti HSF1, kadar sintesis protein atau pusing ganti protein. Justeru, penurunan HSP70 pada 1 jam lebih sesuai ditafsir sebagai perubahan awal dalam homeostasis pengiring molekul, bukan sebagai bukti kegagalan mutlak tindak balas.

Selepas pendedahan berpanjangan selama 7 jam, tindak balas HSP pada 3.5 GHz didominasi oleh peningkatan HSP90. HSP90 ialah komponen utama jentera pengiring molekul yang mengawal homeostasis protein dalam keadaan fisiologi dan tekanan. Protein ini membantu penstabilan dan fungsi pelbagai protein klien yang terlibat dalam kemandirian sel, pembaikan kerosakan, pembezaan dan tindak balas tekanan (Schopf, Biebl & Buchner 2017). Dalam konteks kajian ini, peningkatan HSP90 yang lebih jelas pada 3.5 GHz, tetapi bukan pada 24 GHz, mencadangkan bahawa pendedahan 3.5 GHz mungkin menghasilkan beban tekanan protein yang lebih mendalam atau lebih meluas dalam tisu testis. Tafsiran ini sejajar dengan corak dosimetri yang menunjukkan bahawa 3.5 GHz mempunyai penembusan tenaga yang lebih mendalam berbanding 24 GHz. Oleh itu, peningkatan HSP90 dalam kumpulan 3.5 GHz lebih wajar ditafsir sebagai petunjuk tekanan homeostasis protein yang berpanjangan dalam kompartmen testis yang lebih dalam.

Sebaliknya, pada 24 GHz, pendedahan selama 7 jam mencetuskan peningkatan ketara HSP27 seperti yang digambarkan dalam Rajah 4.6, manakala HSP90 kekal hampir pada tahap kawalan. HSP27 atau HSPB1, ialah protein kejutan haba kecil yang terlibat dalam perlindungan sel semasa tekanan melalui pengawalan homeostasis protein, kestabilan sitoskeleton, tindak balas terhadap tekanan oksidatif dan modulasi apoptosis (Gu, Fan & Yu 2023). Fosforilasi HSP27 boleh mengubah pengoligomeran

dan fungsi perlindungan selularnya termasuk melalui laluan p38 MAPK dan kinase hiliran seperti MAPKAPK2, tetapi laluan ini tidak dinilai secara langsung dalam kajian ini (Sluzala, Hamati & Fort 2025). Kajian langsung pada testis manusia menunjukkan bahawa ekspresi HSP27 berbeza antara spermatogenesis normal dan abnormal, sekali gus menyokong kemungkinan peranannya dalam homeostasis testis (Adly, Assaf & Hussein 2008). Oleh itu, peningkatan HSP27 dalam kumpulan 24 GHz lebih wajar ditafsir sebagai petunjuk respons stres selular dan perlindungan sitoskeletal yang mungkin berkait dengan pemendapan tenaga yang lebih superfisial, bukan sebagai bukti langsung pengaktifan laluan p38 MAPK atau fosforilasi HSP27.

Perbezaan antara HSP90 pada 3.5 GHz dan HSP27 pada 24 GHz juga perlu ditafsir bersama ciri dosimetri kedua-dua frekuensi. Pada 3.5 GHz, pemendapan tenaga yang lebih mendalam berkemungkinan memberi tekanan kepada tisu testis yang lebih luas, lalu mencetuskan keperluan kepada pengiring molekul seperti HSP90 untuk menstabilkan protein klien dan mengekalkan homeostasis protein. Pada 24 GHz pula, pemendapan tenaga yang lebih cetek berkemungkinan lebih tertumpu pada lapisan permukaan atau kompartmen yang lebih hampir dengan permukaan, lalu mencetuskan tindak balas HSP27 yang lebih berkait dengan kestabilan sitoskeleton, membran dan respons perlindungan setempat. Namun, kerana kajian ini tidak mengukur suhu testis, fosforilasi HSP27, aktiviti p38 MAPK atau struktur sitoskeleton, tafsiran ini perlu kekal sebagai penjelasan mekanistik yang berhati-hati.

Secara keseluruhannya, keputusan HSP dalam kajian ini menunjukkan urutan tindak balas yang bergantung kepada tempoh pendedahan harian dan frekuensi. Dalam kumpulan pendedahan 1 jam, ciri utama ialah penurunan HSP70 yang menunjukkan perubahan awal homeostasis pengiring molekul tanpa induksi HSP90 atau HSP27 yang jelas. Dalam kumpulan pendedahan 7 jam, profil tindak balas berpecah mengikut frekuensi. Pada 3.5 GHz, HSP90 menjadi penanda yang lebih dominan dan sejajar dengan tekanan homeostasis protein yang lebih mendalam dalam tisu testis. Pada 24 GHz, HSP27 pula menjadi lebih ketara, selari dengan pendedahan yang lebih superfisial dan kemungkinan keperluan perlindungan sitoskeletal atau membran pada kawasan permukaan. Walau bagaimanapun, corak HSP ini tidak boleh ditafsir secara tunggal sebagai kesan perlindungan atau kecederaan, kerana HSP boleh bertindak secara

sitoprotektif atau berkait dengan laluan apoptosis bergantung kepada tahap tekanan, tempoh pendedahan dan konteks tisu (Ikwegbue *et al.* 2018; Liu *et al.* 2024). Oleh itu, tafsiran biologi bagi dapatan HSP perlu digabungkan dengan hasil sitokin radang, penanda apoptosis dan parameter kualiti sperma sebelum kesimpulan yang lebih tegas tentang kecederaan testis berkaitan frekuensi dibuat.

5.3 MODULASI SITOKIN RADANG DAN MIKRO-PERSEKITARAN IMUN TESTIS

Rajah 4.7 menunjukkan bahawa modulasi sitokin radang dalam tisu testis adalah paling ketara dalam kumpulan 24 GHz. IL-10 menurun secara signifikan pada kedua-dua tempoh pendedahan, iaitu 1 jam dan 7 jam, manakala TNF- α turut menurun secara signifikan selepas pendedahan 7 jam. Sebaliknya, IL-1 β dan IL-6 tidak menunjukkan perubahan bermakna pada mana-mana frekuensi atau tempoh pendedahan. Corak ini menunjukkan bahawa pendedahan 24 GHz tidak mencetuskan keradangan klasik yang menyeluruh di peringkat seluruh testis, tetapi lebih mencerminkan pelarasan terpilih terhadap nada sitokin (*selective down-tuning of cytokine tone*) tempatan.

Testis mempunyai mikro-persekitaran imun yang sangat terkawal bagi membolehkan spermatogenesis berlaku tanpa mencetuskan tindak balas imun terhadap antigen sel germinal. Keistimewaan imun testis bukan sahaja bergantung kepada penghalang darah-testis yang dibentuk oleh sel Sertoli, tetapi turut disokong oleh interaksi antara sel Sertoli, sel Leydig, makrofaj testis, sel peritubular dan sitokin imunoregulasi tempatan (Loveland *et al.* 2017; Washburn *et al.* 2022). Dalam konteks ini, IL-10 berperanan sebagai sitokin anti-radang yang membantu mengehadkan pengaktifan tindak balas pro-radang dan mengekalkan persekitaran imun yang lebih tolerogenik dalam tisu testis (Hasan *et al.* 2022; Loveland *et al.* 2017). Oleh itu, penurunan IL-10 yang konsisten dalam kumpulan 24 GHz menunjukkan bahawa kawalan anti-radang tempatan mungkin berkurang selepas pendedahan berulang. Walau bagaimanapun, ketiadaan peningkatan IL-1 β dan IL-6 menunjukkan bahawa perubahan ini tidak semestinya mewakili keradangan akut yang menyeluruh, sebaliknya lebih sesuai ditafsir sebagai gangguan halus terhadap keseimbangan imun testis.

Pola ini selari dengan rasional dosimetri bagi 24 GHz, iaitu frekuensi gelombang milimeter yang mempunyai penyerapan tenaga lebih cetek berbanding 3.5 GHz. Garis panduan ICNIRP menyatakan bahawa apabila frekuensi meningkat, pemanasan akibat RF-EMF menjadi lebih superfisial dan bagi frekuensi melebihi kira-kira 6 GHz, pemanasan berlaku terutamanya pada lapisan permukaan (ICNIRP 2020). Sehubungan itu, penggunaan ketumpatan kuasa terserap semakin penting untuk penilaian pendedahan tempatan pada frekuensi melebihi 6 GHz kerana SAR sahaja boleh kurang menggambarkan pemanasan permukaan (Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020). Dalam kajian ini, pemendapan tenaga 24 GHz yang lebih tertumpu pada permukaan menyokong kemungkinan bahawa perubahan sitokin berlaku secara setempat pada kawasan yang lebih hampir dengan permukaan testis, termasuk interstisium, kawasan peritubular dan tisu sokongan sekitar, sebelum melibatkan lapisan germinal yang lebih dalam. Oleh kerana keseluruhan sampel testis digunakan dalam kajian ini, perubahan setempat yang kecil mungkin menjadi kurang ketara atau tidak dapat dikesan apabila diukur pada tahap organ keseluruhan. Ini boleh menjelaskan mengapa IL-10 dan TNF- α berubah, tetapi IL-1 β dan IL-6 tidak menunjukkan peningkatan yang jelas.

Penurunan TNF- α pada 7 jam dalam kumpulan 24 GHz juga perlu ditafsirkan dengan berhati-hati. TNF- α lazimnya dianggap sebagai sitokin pro-radang yang boleh mempengaruhi kelangsungan hidup sel, fungsi penghalang darah-testis dan apoptosis melalui pengaktifan reseptor TNF. Walau bagaimanapun, nilai TNF- α yang rendah pada titik akhir kajian tidak semestinya bermaksud paksi TNF tidak pernah terlibat sepanjang tempoh pendedahan. Dalam keadaan rangsangan berulang atau kronik, isyarat TNF boleh dikawal melalui mekanisme penyesuaian seperti pemotongan bentuk membran TNF- α atau reseptor TNF oleh protease *A disintegrin and metalloprotease 17* (ADAM17) di mana ia boleh menghasilkan bentuk larut dan mengubah ketersediaan TNF- α bebas dalam tisu (De Queiroz, Lakkappa & Lazartigues 2020; Deberge *et al.* 2015; Deng *et al.* 2015). Reseptor larut tersebut boleh mengikat TNF- α dan mengurangkan jumlah TNF- α bebas yang tersedia ada untuk menghantar isyarat di membran sel. Akibatnya, kepekatan TNF- α bebas yang diukur dalam tisu boleh menjadi rendah walaupun paksi TNF mungkin telah diaktifkan pada peringkat awal pendedahan (De Queiroz, Lakkappa & Lazartigues 2020). Oleh itu, penurunan TNF- α dalam kajian ini lebih wajar dianggap sebagai petunjuk modulasi atau penyesuaian sitokin pada titik

akhir pendedahan, dan bukan sebagai bukti ketiadaan tindak balas imun. Tafsiran ini perlu kekal berhati-hati kerana kajian ini tidak mengukur ADAM17, reseptor TNF larut atau perubahan temporal TNF- α sepanjang tempoh dedahan.

Ketiadaan perubahan ketara IL-1 β dan IL-6 menunjukkan bahawa pendedahan 3.5 GHz dan 24 GHz dalam keadaan eksperimen ini tidak menghasilkan corak keradangan testis yang kuat pada tahap organ keseluruhan. Dalam keradangan testis yang lebih jelas, peningkatan sitokin pro-radang seperti IL-1 β , IL-6 dan TNF- α lazimnya berkait dengan gangguan spermatogenesis, fungsi sel Sertoli, fungsi sel Leydig dan kestabilan penghalang darah-testis (Hasan *et al.* 2022; Loveland *et al.* 2017). Namun, corak dalam kajian ini adalah berbeza kerana IL-1 β dan IL-6 kekal tidak berubah, manakala IL-10 menurun secara konsisten dalam kumpulan 24 GHz. Oleh itu, dapatan ini lebih menyokong tafsiran bahawa pendedahan 24 GHz menyebabkan gangguan imunoregulasi halus, bukannya tindak balas keradangan pro-radang yang menyeluruh.

5.4 PERBEZAAN POLA PENGAKTIFAN APOPTOSIS

Rajah 4.8 hingga 4.10 menilai pengaktifan apoptosis melalui ekspresi gen *Tp53*, *Bax*, *Bcl2* dan *Casp3*, pewarnaan TUNEL serta indeks apoptotik. Pada pendedahan 1 jam, kumpulan 3.5 GHz menunjukkan penurunan signifikan *Tp53* dan peningkatan *Casp3* berbanding kumpulan kawalan, manakala *Bax* dan *Bcl2* kekal hampir pada paras kawalan. Kumpulan 24 GHz pula tidak menunjukkan perubahan yang jelas pada penanda apoptosis utama. Indeks apoptotik turut meningkat secara signifikan dalam kumpulan 3.5 GHz berbanding kawalan, selari dengan Rajah 4.9. Pemerhatian kualitatif pada Rajah 4.10 juga menunjukkan lebih banyak sel TUNEL-positif dalam kumpulan 3.5 GHz, khususnya pada lapisan epitelium germinal. Corak ini menunjukkan bahawa pendedahan 3.5 GHz lebih cenderung mengaktifkan apoptosis testis berbanding 24 GHz pada tempoh pendedahan awal.

Tp53 ialah gen pengawal selia penting dalam tindak balas terhadap tekanan selular, kerosakan DNA, titik semak (*checkpoint*) kitaran sel dan keputusan antara pembaikan sel atau apoptosis. Dalam sistem reproduktif lelaki, p53 turut terlibat dalam

pengawalan spermatogenesis dan kelangsungan hidup sel germinal (Aubrey *et al.* 2018; Li *et al.* 2024). Walau bagaimanapun, ekspresi *Tp53* adalah dinamik dan tidak semestinya meningkat secara berterusan pada semua fasa tindak balas stres. Oleh itu, penurunan *Tp53* pada 1 jam dalam kumpulan 3.5 GHz tidak boleh ditafsirkan sebagai ketiadaan tekanan selular. Sebaliknya, apabila penurunan *Tp53* dinilai bersama peningkatan *Casp3*, peningkatan indeks apoptotik dan pertambahan sel TUNEL-positif, dapatan ini lebih menyokong kemungkinan berlakunya pengaktifan awal laluan apoptosis bergantung caspase dalam lapisan germinal testis.

Bax dan *Bcl2* pula mewakili dua komponen penting keluarga BCL-2 yang mengawal kecenderungan sel untuk memasuki apoptosis mitokondria. *Bax* bersifat pro-apoptotik, manakala *Bcl2* bersifat anti-apoptotik dan membantu mengekalkan kelangsungan hidup sel (Qian *et al.* 2022). Dalam kajian ini, ketiadaan perubahan signifikan *Bax* dan *Bcl2* pada 1 jam menunjukkan bahawa perubahan apoptosis dalam kumpulan 3.5 GHz tidak dapat dilihat secara jelas melalui perubahan transkrip *Bax* atau *Bcl2* pada titik masa pengukuran. Namun, peningkatan *Casp3* dan indeks apoptotik menunjukkan bahawa fasa pelaksanaan apoptosis telah berlaku. Tafsiran ini penting kerana ekspresi mRNA bagi penanda huluan tidak semestinya sepadan sepenuhnya dengan aktiviti protein atau kejadian apoptosis hiliran, terutamanya apabila hanya satu titik masa pengukuran dinilai selepas pendedahan berulang selama 60 hari.

Selepas pendedahan 7 jam, perbezaan antara frekuensi menjadi lebih jelas pada peringkat indeks apoptotik. Dalam kumpulan 3.5 GHz, indeks apoptotik kekal lebih tinggi berbanding kumpulan kawalan dan 24 GHz, di mana ini menunjukkan bahawa lebih banyak sel germinal berada dalam fasa akhir apoptosis. Pada masa yang sama, ekspresi *Tp53*, *Bax*, *Bcl2* dan *Casp3* tidak lagi menunjukkan perbezaan signifikan berbanding kawalan. Corak ini mencadangkan bahawa perubahan transkrip penanda apoptosis mungkin berlaku secara sementara atau lebih awal, manakala kesan hiliran seperti fragmentasi DNA dan pertambahan sel TUNEL-positif masih dapat dikesan pada titik akhir kajian. Oleh itu, indeks apoptotik dan pewarnaan TUNEL memberikan bukti selular yang lebih langsung terhadap kehilangan sel germinal berbanding ekspresi mRNA sahaja.

Sebaliknya, kumpulan 24 GHz tidak menunjukkan peningkatan signifikan indeks apoptotik pada kedua-dua tempoh pendedahan. Dapatan ini menunjukkan bahawa pendedahan 24 GHz dalam keadaan eksperimen kajian ini tidak memberikan bukti kukuh terhadap pengaktifan apoptosis testis yang meluas. Tafsiran ini selari dengan rasional dosimetri kajian, iaitu pemendapan tenaga 24 GHz lebih tertumpu pada lapisan permukaan dan kurang berkemungkinan menghasilkan pemendapan tenaga yang mendalam dalam parenkima testis berbanding 3.5 GHz. Walaupun peningkatan HSP27, penurunan IL-10 dan penurunan TNF- α pada 24 GHz menunjukkan perubahan stres selular dan mikro-persekitaran imun, perubahan tersebut tidak disertai peningkatan *Casp3* atau indeks apoptotik. Oleh itu, kesan 24 GHz lebih sesuai ditafsir sebagai modulasi stres dan imun setempat, bukan sebagai pengaktifan apoptosis testis bergantung caspase yang meluas.

Dapatan ini konsisten dengan beberapa kajian RF-EMF terdahulu yang menunjukkan bahawa pendedahan pada frekuensi sub-6 GHz boleh dikaitkan dengan peningkatan penanda apoptosis dalam testis. Sebagai contoh, pendedahan 2.45 GHz telah dilaporkan meningkatkan tekanan oksidatif, perubahan histologi dan penanda apoptosis dalam testis, manakala pendedahan RF-EMF lain turut dikaitkan dengan peningkatan *Casp3*, perubahan nisbah Bax/Bcl2 dan pertambahan sel TUNEL-positif dalam tisu testis (Guo *et al.* 2019; Kirimlioglu *et al.* 2024; Shahin, Singh & Chaturvedi 2018). Kajian terkini 5G FR1 juga menunjukkan bahawa pendedahan 5.9 GHz pada tikus Sprague Dawley boleh meningkatkan tekanan oksidatif, kerosakan histopatologi testis serta imunopositiviti GRP78 dan CHOP (Yilmaz *et al.* 2025). Kajian ini juga menunjukkan bahawa tekanan retikulum endoplasma boleh menjadi salah satu laluan tambahan dalam kecederaan testis akibat RF-EMF (Yilmaz *et al.* 2025). Oleh itu, mekanisme kecederaan testis akibat RF-EMF tidak semestinya terhad kepada satu laluan apoptosis sahaja, tetapi boleh melibatkan tekanan oksidatif, tekanan retikulum endoplasma, tekanan proteostatik dan pengaktifan apoptosis bergantung caspase.

Secara keseluruhan, kajian ini menunjukkan pola apoptosis yang bergantung kepada frekuensi. Pendedahan 3.5 GHz dikaitkan dengan peningkatan *Casp3* pada 1 jam, peningkatan indeks apoptotik pada kedua-dua tempoh, serta peningkatan sel TUNEL-positif dalam lapisan epitelium germinal. Corak ini menyokong pengaktifan

apoptosis bergantung caspase dalam tisu testis yang lebih dalam. Sebaliknya, pendedahan 24 GHz tidak meningkatkan indeks apoptotik secara signifikan dan tidak menunjukkan bukti kukuh terhadap apoptosis testis yang meluas. Apabila dikaitkan dengan profil dosimetri, dapatan ini menyokong tafsiran bahawa 3.5 GHz lebih berpotensi mempengaruhi isipadu tisu testis yang lebih besar, manakala 24 GHz lebih cenderung memberi kesan pada kawasan permukaan atau mikro-persekitaran setempat tanpa pengaktifan luas laluan apoptosis dalam seluruh testis.

Setelah keputusan dosimetri, HSP, sitokin radang dan penanda apoptosis dikaitkan bersama, dua corak biologi yang berbeza dapat dikenal pasti. Bagi 3.5 GHz, pemendapan tenaga yang lebih mendalam berlaku bersama peningkatan HSP90, peningkatan *Casp3* dan indeks apoptotik, lalu menyokong penglibatan tekanan selular dan apoptosis germinal sebagai mekanisme utama kecederaan testis. Bagi 24 GHz, pemendapan tenaga yang lebih cetek berlaku bersama peningkatan HSP27 dan perubahan sitokin, tetapi tanpa peningkatan indeks apoptotik yang jelas. Oleh itu, kesan 24 GHz lebih wajar ditafsir sebagai modulasi stres selular dan mikro-persekitaran imun yang bersifat setempat, manakala kesan 3.5 GHz lebih konsisten dengan pengaktifan apoptosis testis yang lebih mendalam dan laluan bergantung caspase.

5.5 IMPLIKASI FISILOGI TERHADAP KUALITI SPERMA

Tempoh pendedahan selama 60 hari merangkumi sekurang-kurangnya satu kitaran spermatogenesis tikus yang mengambil masa kira-kira 52 hingga 54 hari dan turut melibatkan tempoh pematangan serta transit spermatozoa melalui epididimis (Bhattacharya, Dey & Banerjee 2023; Perrard *et al.* 2016; Picut & Remick 2017). Oleh itu, parameter sperma yang dinilai pada akhir kajian menggambarkan status fungsi reproduktif selepas pendedahan berpanjangan yang melibatkan proses spermatogenesis dan pematangan sperma.

Berbeza dengan 3.5 GHz, perubahan kepekatan sperma hanya diperhatikan selepas pendedahan 24 GHz selama 7 jam sehari (Rajah 4.11). Walaupun kumpulan 3.5 GHz menunjukkan peningkatan indeks apoptotik pada kedua-dua tempoh dedahan dan peningkatan ekspresi *Casp3* pada 1 jam sehari, perubahan tersebut tidak disertai dengan

penurunan kepekatan sperma yang dapat dikesan. Dapatan ini menunjukkan bahawa peningkatan apoptosis dalam testis tidak semestinya diterjemahkan secara langsung kepada pengurangan kepekatan sperma epididimis dalam tempoh kajian ini. Kajian RF-EMF terdahulu juga menunjukkan bahawa perubahan pada parameter sperma tidak berlaku secara seragam, dengan motiliti dan daya hidup dilaporkan berubah dalam sesetengah keadaan tanpa penurunan kepekatan sperma yang setara (Jaffar *et al.* 2019; Shokri *et al.* 2015; Vijay *et al.* 2025).

Sebaliknya, penurunan kepekatan sperma pada kumpulan 24 GHz selama 7 jam berlaku tanpa peningkatan indeks apoptotik testis yang signifikan. Corak ini menunjukkan bahawa penurunan kepekatan sperma pada 24 GHz tidak dapat diterangkan semata-mata berdasarkan apoptosis testis yang dinilai dalam kajian ini. Pendedahan tenaga pada 24 GHz adalah lebih superfisial berbanding 3.5 GHz, selari dengan sifat gelombang frekuensi tinggi yang mempunyai kedalaman penembusan yang lebih rendah (Adekola, Amusa & Biowei 2025; Hirata *et al.* 2021; ICNIRP 2020; Sacco & Zhadobov 2024). Walau bagaimanapun, kerana histologi dan mikro-persekitaran epididimis tidak dinilai, lokasi dan mekanisme yang mendasari perubahan kepekatan sperma ini tidak dapat ditentukan secara langsung. Kajian terdahulu pada frekuensi lain telah melaporkan perubahan parameter sperma bersama perubahan pada testis atau epididimis, tetapi dapatan tersebut tidak boleh diekstrapolasi secara langsung kepada pendedahan 24 GHz dalam kajian ini (Jamaludin *et al.* 2025; Saygin *et al.* 2016; Shokri *et al.* 2015; Vijay *et al.* 2025).

Daya hidup sperma turut menunjukkan pola yang berbeza mengikut sistem pendedahan dan tempoh dedahan. Pada 1 jam sehari, daya hidup sperma menurun secara signifikan dalam kumpulan 24 GHz berbanding kawalan dan 3.5 GHz. Pada 7 jam sehari, kedua-dua kumpulan 3.5 GHz dan 24 GHz menunjukkan penurunan daya hidup berbanding kawalan, dengan penurunan yang lebih besar pada kumpulan 3.5 GHz (Rajah 4.13). Bagi 3.5 GHz, penurunan daya hidup pada tempoh 7 jam berlaku bersama peningkatan indeks apoptotik testis. Walaupun peningkatan ekspresi *Casp3* turut diperhatikan pada 3.5 GHz, perubahan tersebut lebih jelas pada tempoh dedahan 1 jam sehari. Corak ini menunjukkan bahawa perubahan selular dalam testis berlaku seiring dengan kemerosotan daya hidup sperma. Secara keseluruhan, perubahan daya hidup

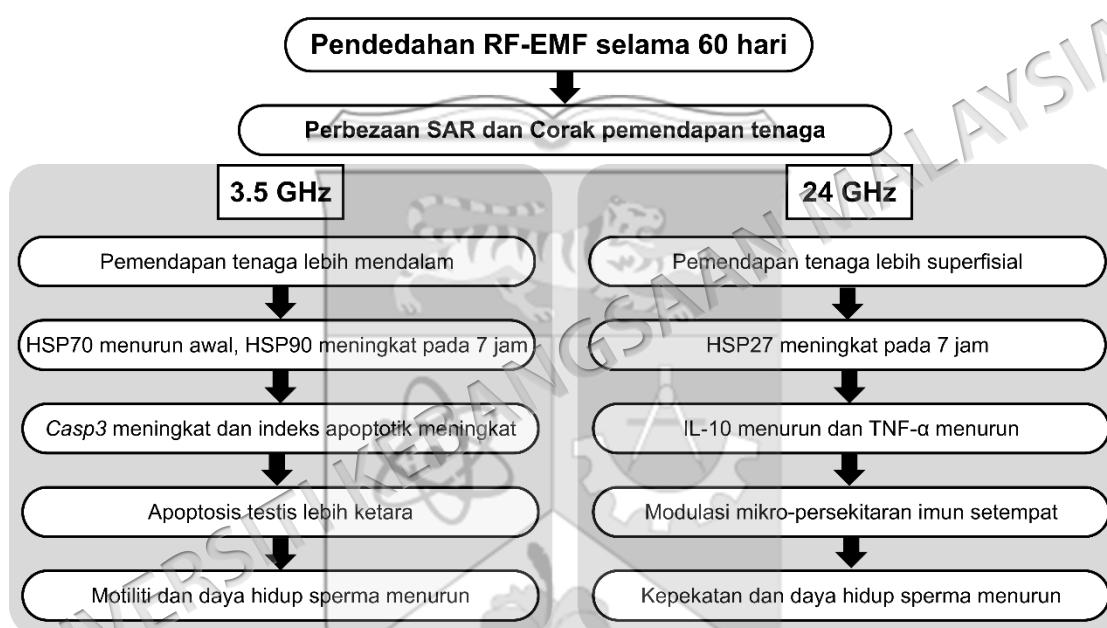
sperma adalah konsisten dengan bukti bahawa kesan RF-EMF terhadap sperma boleh berbeza mengikut frekuensi, konfigurasi pendedahan, tempoh dedahan dan model biologi yang digunakan (Assefa & Abdu 2025; Cordelli *et al.* 2024; Houston *et al.* 2016; Jamaludin *et al.* 2025).

Motiliti sperma merupakan parameter yang paling konsisten terjejas dalam kumpulan 3.5 GHz. Motiliti menurun secara signifikan berbanding kawalan pada kedua-dua tempoh dedahan 1 jam dan 7 jam sehari, manakala kumpulan 24 GHz tidak menunjukkan penurunan signifikan berbanding kawalan (Rajah 4.12). Penurunan motiliti pada 3.5 GHz berlaku bersama pemendapan tenaga yang relatif lebih mendalam dan pola apoptosis testis yang lebih jelas. Oleh itu, dapatan ini menunjukkan hubungan antara perubahan dalam testis dengan gangguan fungsi pergerakan sperma. Motiliti sperma turut dipengaruhi oleh fungsi mitokondria, kestabilan membran, struktur flagelum, status redoks dan proses pematangan epididimis (Cordelli *et al.* 2024; Houston *et al.* 2016; Kesari, Agarwal & Henkel 2018). Oleh sebab parameter tersebut tidak dinilai secara langsung, penurunan motiliti dalam kumpulan 3.5 GHz lebih sesuai ditafsir sebagai bukti gangguan fungsi sperma dalam keadaan pendedahan kajian ini.

Secara keseluruhan, dapatan kajian ini menunjukkan bahawa 3.5 GHz dan 24 GHz menghasilkan pola perubahan kualiti sperma yang berbeza, selari dengan perbezaan dosimetri dan tindak balas biologi yang diperhatikan.

5.6 SINTESIS INTEGRATIF KESAN 3.5 GHZ DAN 24 GHZ TERHADAP TESTIS DAN KUALITI SPERMA

Secara integratif, dapatan kajian menunjukkan bahawa pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz menghasilkan pola tindak balas biologi yang berbeza apabila dinilai berdasarkan dosimetri, respons protein kejutan haba, modulasi sitokin radang, apoptosis testis dan kualiti sperma. Perbezaan ini dirumuskan dalam Rajah 5.1 dengan menggabungkan pola pemendapan tenaga dengan perubahan biologi dalam testis dan titik akhir fungsi reproduktif.



Rajah 5.1 Sintesis integratif kesan pendedahan 3.5 GHz dan 24 GHz terhadap testis dan kualiti sperma.

Bagi 3.5 GHz, pola pemendapan tenaga adalah relatif lebih mendalam dan meluas berbanding 24 GHz. Corak dosimetri ini berlaku bersama perubahan respons stres selular dan apoptosis yang lebih jelas dalam testis. HSP70 menurun pada tempoh dedahan 1 jam sehari, manakala HSP90 meningkat pada 7 jam sehari. HSP70 dan HSP90 merupakan protein pengiring molekul yang terlibat dalam pemeliharaan proteostasis dan respons sel terhadap tekanan (Jiang *et al.* 2011; Lanneau *et al.* 2008; Liu *et al.* 2024). Perubahan berbeza pada kedua-dua HSP ini menunjukkan bahawa respons stres selular terhadap 3.5 GHz turut dipengaruhi oleh tempoh dedahan harian. Peningkatan HSP90 pada 7 jam sehari berlaku dalam keadaan indeks apoptotik dan

gangguan kualiti sperma masih jelas, dan oleh itu lebih konsisten dengan suatu respons pampasan terhadap tekanan selular yang berterusan.

Peranan *Tp53* sebagai nod silang (*cross-talk node*) antara tekanan selular, kerosakan sel dan apoptosis juga membantu menjelaskan gabungan dapatan pada 3.5 GHz. *Tp53* terlibat dalam pengawalan titik semak kitaran sel, pengaktifan gen pro-apoptotik dan modulasi keseimbangan antara isyarat pro-apoptotik dan anti-apoptotik dalam sistem reproduktif lelaki (Durairajanayagam, Agarwal & Ong 2015; Li *et al.* 2024). Pada tempoh dedahan 1 jam sehari, penurunan ekspresi *Tp53* berlaku bersama peningkatan *Casp3* dan indeks apoptotik, manakala pada 7 jam sehari indeks apoptotik kekal lebih tinggi walaupun perubahan ekspresi gen apoptosis tidak menunjukkan pola yang sama. Dalam keadaan ini, transkrip hulu (*upstream*) boleh kembali menghampiri aras kawalan, tetapi kandungan tubul seminiferus masih menunjukkan lebih banyak sel yang sedang menjalani apoptosis. Corak ini menyokong tafsiran bahawa pendedahan 3.5 GHz mengaktifkan apoptosis bergantung caspase dalam lapisan germinal. Pengaktifan ini juga boleh berlaku walaupun transkripsi *Bax* dan *Bcl2* tidak banyak berubah kerana permulaan apoptosis sangat dipengaruhi oleh jumlah protein, nisbah protein, pengubahsuaian pasca-translasi dan pengagihan subselular protein keluarga BCL-2, bukan oleh perubahan mRNA semata-mata (Lanneau *et al.* 2008; Qian *et al.* 2022).

Corak HSP90 dan kualiti sperma memberikan lapisan maklumat tambahan bagi frekuensi 3.5 GHz. Dalam kajian sperma lembu jantan, kandungan HSP90 dilaporkan berkait dengan motiliti sperma selepas proses pembekuan dan penyahbekuan, manakala HSP70 turut dikaitkan dengan kualiti sperma, kapasitasi, interaksi sperma-oosit dan potensi fertiliti (Rosyada *et al.* 2022; Zhang *et al.* 2015a; Zhang *et al.* 2015b). Berdasarkan kerangka ini, peningkatan HSP90 pada 3.5 GHz selepas pendedahan 7 jam tidak wajar ditafsir sebagai tanda pemulihan fungsi yang lengkap. Sebaliknya, peningkatan tersebut lebih munasabah ditafsir sebagai tindak balas pampasan untuk mengekalkan proteostasis dan fungsi spermatogenesis dalam tubul seminiferus yang sedang mengalami tekanan. Hal ini kerana peningkatan HSP90 berlaku serentak dengan motiliti sperma yang menurun dan indeks apoptotik yang kekal tinggi. Dengan kata lain, walaupun HSP90 lazimnya dikaitkan dengan sokongan terhadap fungsi sperma,

peningkatan HSP90 dalam kajian ini berlaku dalam konteks tekanan selular yang tidak dapat dibendung sepenuhnya, lalu menghasilkan sperma yang masih menunjukkan kemerosotan motiliti dan daya hidup. Secara keseluruhan, pola 3.5 GHz dicirikan oleh pemendapan tenaga yang relatif lebih mendalam, perubahan HSP yang bergantung pada tempoh dedahan, peningkatan apoptosis testis serta kemerosotan motiliti dan daya hidup sperma.

Sebaliknya, pendedahan 24 GHz menunjukkan pemendapan tenaga yang lebih superfisial serta pola tindak balas biologi yang berbeza. HSP70 menurun selepas tempoh dedahan 1 jam sehari, manakala HSP27 meningkat selepas 7 jam sehari. HSP27 merupakan protein kejutan haba kecil yang terlibat dalam proteostasis, kestabilan sitoskeleton dan respons perlindungan sel terhadap tekanan (Gu, Fan & Yu 2023; Lanneau *et al.* 2008). HSP27 juga boleh mengganggu pembentukan kompleks sitokrom C, Apaf-1 dan caspase-9, lalu mengurangkan pengaktifan caspase-3 (Lanneau *et al.* 2008). Pada masa yang sama, IL-10 menurun pada kedua-dua tempoh dedahan, manakala TNF- α menurun pada 7 jam sehari. Sebaliknya, IL-6 dan IL-1 β tidak menunjukkan perubahan signifikan. Gabungan perubahan ini lebih menunjukkan modulasi terpilih pada mikro-persekitaran imun testis berbanding pengaktifan tindak balas keradangan yang menyeluruh. Perubahan HSP dan sitokin juga tidak disertai peningkatan signifikan Casp3 atau indeks apoptotik seperti yang diperhatikan pada 3.5 GHz.

Peranan HSP dalam imunologi reproduktif lelaki turut menyokong hubungan antara HSP27, IL-10 dan ketiadaan apoptosis testis yang meluas pada 24 GHz. Kajian terdahulu menunjukkan bahawa perubahan aras sitokin seperti IL-6, IL-8, TNF- α dan IL-10 bersama ekspresi HSP tertentu dalam semen manusia sering dikaitkan dengan perubahan mikro-persekitaran imun reproduktif, termasuk kehadiran leukosit, jangkitan bakteria dan antibodi anti-sperma (Martínez-Prado & Camejo Bermúdez 2010). Kajian terkini mencadangkan bahawa HSP yang dilepaskan daripada sel yang mengalami tekanan atau kerosakan boleh bertindak sebagai isyarat bahaya kepada sistem imun, sekali gus mempengaruhi tindak balas imun setempat dalam tisu reproduktif lelaki (Cao *et al.* 2025). Dalam kerangka ini, kombinasi HSP27 yang meningkat dan IL-10 yang menurun pada 24 GHz boleh ditafsirkan sebagai perubahan halus pada paksi tekanan

selular dan imunoregulasi. Namun, bukti dalam kajian ini tidak menyokong kesimpulan bahawa 24 GHz menyebabkan apoptosis testis yang meluas seperti yang diperhatikan pada 3.5 GHz.

Walaupun apoptosis testis tidak meningkat secara signifikan pada 24 GHz, perubahan kualiti sperma tetap berlaku. Daya hidup sperma menurun pada 1 jam sehari, manakala pada 7 jam sehari kepekatan dan daya hidup sperma menurun, sedangkan motiliti tidak menunjukkan perubahan signifikan berbanding kawalan. Corak ini menunjukkan bahawa perubahan fungsi reproduktif selepas pendedahan 24 GHz tidak semestinya selari dengan pola apoptosis testis yang diperhatikan pada 3.5 GHz. Sebaliknya, dapatan 24 GHz dicirikan oleh gabungan pemendapan tenaga yang lebih superfisial, peningkatan HSP27, perubahan terpilih pada IL-10 dan TNF- α serta kemerosotan kepekatan dan daya hidup sperma.

Apabila kedua-dua frekuensi dibandingkan secara keseluruhan, 3.5 GHz menunjukkan pola yang lebih berkait dengan pemendapan tenaga yang lebih mendalam, perubahan respons HSP, peningkatan apoptosis testis serta penurunan motiliti dan daya hidup sperma. Sebaliknya, 24 GHz menunjukkan pemendapan tenaga yang lebih superfisial, respons HSP27 dan modulasi sitokin yang lebih menonjol, diikuti perubahan pada kepekatan dan daya hidup sperma tanpa peningkatan apoptosis testis yang setara. Perbezaan ini menunjukkan bahawa tindak balas sistem reproduktif lelaki terhadap RF-EMF tidak berlaku secara seragam antara frekuensi, tetapi bergantung pada ciri dosimetri serta pola respons biologi yang terhasil.

BAB VI

KESIMPULAN

6.1 RUMUSAN

Kajian ini menilai kesan pendedahan RF-EMF 3.5 GHz dan 24 GHz selama 60 hari terhadap kecederaan testis dan kualiti sperma tikus Sprague Dawley jantan dewasa pada tempoh dedahan 1 jam dan 7 jam sehari. Kesimpulan utama kajian berdasarkan objektif spesifik adalah seperti berikut::

1. **Analisis dosimetri menunjukkan pola pemendapan tenaga yang berbeza antara 3.5 GHz dan 24 GHz.** Pendedahan 3.5 GHz menghasilkan pemendapan tenaga yang relatif lebih mendalam dan meluas, manakala 24 GHz menunjukkan pemendapan yang lebih tertumpu pada permukaan. Nilai SAR pada jarak pendedahan eksperimen 20 cm merupakan anggaran yang diperoleh melalui ekstrapolasi daripada hasil simulasi pada jarak 5 cm dan 10 cm.
2. **Pendedahan 3.5 GHz dan 24 GHz menghasilkan pola respons HSP yang berbeza mengikut tempoh dedahan.** HSP70 menurun pada kedua-dua frekuensi bagi tempoh dedahan 1 jam sehari. Pada 7 jam sehari, HSP90 meningkat pada 3.5 GHz, manakala HSP27 meningkat pada 24 GHz, menunjukkan respons stres selular yang berbeza antara kedua-dua sistem pendedahan.
3. **Perubahan sitokin radang lebih ketara pada pendedahan 24 GHz.** IL-10 menurun pada kedua-dua tempoh dedahan, manakala TNF- α menurun pada 7 jam sehari. IL-6 dan IL-1 β pula tidak menunjukkan perubahan signifikan. Corak ini menunjukkan modulasi terpilih pada mikro-persekitaran imun testis tanpa pola peningkatan sitokin pro-radang yang menyeluruh.

4. **Pola apoptosis testis lebih jelas selepas pendedahan 3.5 GHz berbanding 24 GHz.** Pada 3.5 GHz, ekspresi *Casp3* meningkat pada tempoh dedahan 1 jam sehari, manakala indeks apoptotik meningkat pada kedua-dua tempoh dedahan 1 jam dan 7 jam sehari. Sebaliknya, 24 GHz tidak menunjukkan peningkatan indeks apoptotik yang signifikan.
5. **Kedua-dua frekuensi menjejaskan kualiti sperma dengan pola yang berbeza.** Pada 3.5 GHz, motiliti sperma menurun pada kedua-dua tempoh dedahan, manakala daya hidup menurun pada 7 jam sehari. Pada 24 GHz, daya hidup sperma menurun pada 1 jam sehari, manakala pada 7 jam sehari kepekatan dan daya hidup sperma menurun.

Secara keseluruhannya, kajian ini menunjukkan bahawa pendedahan 3.5 GHz dan 24 GHz menghasilkan pola dosimetri, tindak balas biologi testis dan perubahan kualiti sperma yang berbeza. Pendedahan 3.5 GHz lebih dicirikan oleh pemendapan tenaga yang relatif lebih mendalam, perubahan respons HSP, peningkatan apoptosis testis serta penurunan motiliti dan daya hidup sperma. Sebaliknya, 24 GHz menunjukkan pemendapan tenaga yang lebih superfisial, peningkatan HSP27 dan modulasi sitokin terpilih, bersama penurunan kepekatan dan daya hidup sperma. Dapatan ini menunjukkan bahawa tindak balas reproduktif terhadap RF-EMF bergantung pada ciri sistem pendedahan dan tempoh dedahan harian, dengan pola respons yang berbeza antara 3.5 GHz dan 24 GHz.

Dari sudut sumbangan saintifik, kajian ini menyediakan bukti bersepadu yang menghubungkan pencirian dosimetri dengan tindak balas biologi testis dan perubahan kualiti sperma bagi pendedahan 3.5 GHz dan 24 GHz. Pendekatan ini membantu memperjelas bahawa kedua-dua frekuensi menunjukkan pola tindak balas reproduktif yang berbeza, sekali gus menambah kefahaman tentang kepentingan ciri pendedahan dan pemendapan tenaga dalam penilaian kesan RF-EMF terhadap sistem reproduktif lelaki. Dapatan ini juga menyediakan asas untuk kajian lanjutan yang menggunakan dosimetri lebih tepat, penilaian mekanistik yang lebih menyeluruh dan titik akhir fertiliti yang lebih distal bagi menyokong penilaian risiko RF-EMF pada masa hadapan.



6.2 LIMITASI KAJIAN

1. **Nilai SAR pada jarak pendedahan eksperimen 20 cm tidak diperoleh melalui simulasi langsung**, sebaliknya dianggarkan melalui ekstrapolasi daripada nilai simulasi pada jarak 5 cm dan 10 cm. Oleh itu, nilai SAR pada 20 cm perlu ditafsir sebagai anggaran dosimetri dan bukannya nilai yang diperoleh daripada simulasi langsung.
2. **Sumber pendedahan 24 GHz yang digunakan dalam simulasi dan eksperimen *in vivo* adalah berbeza.** Simulasi dosimetri menggunakan model antena mikrojalur 24 GHz, manakala eksperimen *in vivo* menggunakan modul radar komersial HLK-LD2420.
3. **Suhu permukaan kulit, skrotum dan testis tidak diukur secara langsung sepanjang tempoh pendedahan.** Oleh itu, sumbangan perubahan suhu terhadap respons biologi yang diperhatikan tidak dapat ditentukan secara langsung.
4. **Kajian ini menilai panel penanda biologi yang terpilih**, iaitu HSP, sitokin radang, ekspresi gen apoptosis dan indeks apoptotik. Penanda lain yang dapat memperincikan tindak balas selular, seperti tekanan oksidatif, fungsi mitokondria, kerosakan DNA, tekanan retikulum endoplasma dan protein apoptosis aktif tidak dinilai. Selain itu, pengukuran dilakukan selepas tamat tempoh pendedahan 60 hari tanpa titik masa perantaraan atau fasa pemulihan. Oleh itu, kajian ini membolehkan pengenalan pola perkaitan antara dosimetri, tindak balas biologi testis dan kualiti sperma, tetapi tidak direka untuk menentukan hubungan sebab-akibat atau mengesahkan satu laluan mekanistik tertentu.
5. **Kajian ini menilai sperma daripada epididimis kauda tetapi tidak menilai tisu epididimis secara langsung.** Histologi, tekanan oksidatif dan mikro-persekitaran epididimis tidak dianalisis. Titik akhir fungsi reproduktif yang lebih distal seperti keupayaan persenyawaan, kadar kehamilan dan perkembangan embrio awal juga tidak dinilai.

6.3 CADANGAN KAJIAN LANJUTAN

1. **Penilaian dosimetri perlu diperkukuh menggunakan geometri pendedahan sebenar pada jarak 20 cm**, termasuk simulasi langsung pada jarak tersebut. Bagi 24 GHz, penggunaan ketumpatan kuasa terserap sebagai metrik dosimetri perlu dipertimbangkan bersama SAR bagi memberikan pencirian pendedahan yang lebih sesuai pada frekuensi melebihi 6 GHz. Selain itu, sumber pendedahan yang digunakan dalam simulasi sebaik-baiknya mempunyai ciri elektromagnetik dan konfigurasi yang sama dengan sumber yang digunakan dalam eksperimen *in vivo*.
2. **Pengukuran suhu permukaan kulit, skrotum dan testis secara langsung perlu dilakukan sepanjang pendedahan** bagi menentukan perubahan suhu setempat dan memperkukuh interpretasi hubungan antara pemendapan tenaga dengan tindak balas biologi.
3. **Penilaian biologi perlu diperluaskan kepada penanda tambahan**, termasuk tekanan oksidatif, fungsi mitokondria, kerosakan DNA, tekanan retikulum endoplasma serta protein apoptosis aktif. Penilaian pada aras protein bagi penanda apoptosis seperti caspase teraktif, Bax dan Bcl-2 juga dapat melengkapkan dapatan ekspresi gen dan TUNEL.
4. **Penilaian terhadap epididimis perlu dimasukkan**, termasuk histologi, status tekanan oksidatif dan mikro-persekitaran epididimis, bagi memperjelas lokasi perubahan yang berkaitan dengan kemerosotan kualiti sperma.
5. **Reka bentuk kajian masa hadapan perlu merangkumi tempoh pendedahan dan tempoh pemulihan yang berbeza** bagi menentukan sama ada perubahan HSP, sitokin, apoptosis dan kualiti sperma bersifat sementara, berterusan atau boleh pulih selepas pendedahan dihentikan.
6. **Titik akhir fungsi reproduktif yang lebih distal perlu dinilai**, termasuk kapasiti persenyawaan, kadar kehamilan dan perkembangan embrio awal, bagi menentukan implikasi perubahan kualiti sperma terhadap hasil reproduktif sebenar.

RUJUKAN

- Adamczewska, D., Slowikowska-Hilcz, J., Marchlewska, K. & Walczak-Jedrzejowska, R. 2020. Features of Gonadal Dysgenesis and Leydig Cell Impairment in Testes With Sertoli Cell-Only Syndrome. *Folia Histochemica Et Cytobiologica* 58(2): 73-82.
- Adekola, S. A., Amusa, K. A. & Biowei, G. 2025. Impact of 5G mmWave radiation on human tissue using skin, cornea (eye) and enamel (tooth) as study candidates. *Journal of Engineering and Applied Science* 72(1).
- Adly, M. A., Assaf, H. A. & Hussein, M. R. A. 2008. Heat shock protein 27 expression in the human testis showing normal and abnormal spermatogenesis. *Cell Biology International* 32(10): 1247-1255.
- Aerts, S., Deprez, K., Verloock, L., Olsen, R. G., Martens, L., Tran, P. & Joseph, W. 2023. RF-EMF Exposure near 5G NR Small Cells. *Sensors* 23(6): 3145.
- Aerts, S., Plets, D., Thielens, A., Martens, L. & Joseph, W. 2015. Impact of a small cell on the RF-EMF exposure in a train. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 12(3): 2639-2652.
- Aerts, S., Plets, D., Verloock, L., Martens, L. & Joseph, W. 2014. Assessment and comparison of total RF-EMF exposure in femtocell and macrocell base station scenarios. *Radiation Protection Dosimetry* 162(3): 236-243.
- Aerts, S., Wiart, J. & Bolte, J. 2024. Combining Advanced Tools to Monitor RF-EMF Exposure in Next-Generation Telecommunication Networks. *2024 IEEE INC-USNC-URSI Radio Science Meeting (Joint with AP-S Symposium), INC-USNC-URSI 2024 - Proceedings*, hlm 178.
- Agarwal, A., Sharma, R. K., Gupta, S., Boitrelle, F., Finelli, R., Parekh, N., Durairajanayagam, D., Saleh, R., Arafa, M., Cho, C. L., Farkouh, A., Rambhatla, A., Henkel, R., Vogiatzi, P., Tadros, N., Kavoussi, P., Ko, E., Leisegang, K., Kandil, H., Palani, A., Salvio, G., Mostafa, T., Rajmil, O., Banihani, S. A., Schon, S., Le, T. V., Birowo, P., Çeker, G., Alvarez, J., Molina, J. M. C., Ho, C. C. K., Calogero, A. E., Khalafalla, K., Duran, M. B., Kuroda, S., Colpi, G. M., Zini, A., Anagnostopoulou, C., Pescatori, E., Chung, E., Caroppo, E., Dimitriadis, F., Pinggera, G. M., Busetto, G. M., Balercia, G., Elbardisi, H., Taniguchi, H., Park, H. J., Maldonado Rosas, I., De La Rosette, J., Ramsay, J., Bowa, K., Simopoulou, M., Rodriguez, M. G., Sabbaghian, M., Martinez, M., Gilani, M. a. S., Al-Marhoon, M. S., Kosgi, R., Cannarella, R., Micic, S., Fukuhara, S., Parekatil, S., Jindal, S., Abdel-Meguid, T. A., Morimoto, Y. & Shah, R. 2022. Sperm Vitality and Necrozoospermia: Diagnosis, Management, and Results of a Global Survey of Clinical Practice. *World J Mens Health* 40(2): 228-242.
- Ahamed, M. M. & Faruque, S. 2021. 5G network coverage planning and analysis of the deployment challenges. *Sensors* 21(19).

- Ahsan Ashraf, M. & Celik, T. 2024. Evaluating radiofrequency electromagnetic field exposure in confined spaces: a systematic review of recent studies and future directions. *Radiat Prot Dosimetry* 200(6): 598-616.
- Alamo, A., Condorelli, R. A., Mongioi, L. M., Cannarella, R., Giaccone, F., Calabrese, V., La Vignera, S. & Calogero, A. E. 2019. Environment and male fertility: Effects of benzo- α -pyrene and resveratrol on human sperm function in vitro. *Journal of Clinical Medicine* 8(4).
- Alamo, A., La Vignera, S., Mogioi, L. M., Crafa, A., Barbagallo, F., Cannarella, R., Aversa, A., Calogero, A. E. & Condorelli, R. A. 2024. In-Vitro Effects of Perfluorooctanoic Acid on Human Sperm Function: What Are the Clinical Consequences? *Journal of Clinical Medicine* 13(8).
- Aldahhan, R. A. & Stanton, P. G. 2021. Heat stress response of somatic cells in the testis. *Molecular and Cellular Endocrinology* 527: 111216.
- Almášiová, V., Holovská, K., Andrašková, S., Cigánková, V., Ševčíková, Z., Raček, A., Andrejčáková, Z., Beňová, K., Tóth, Š., Tvrdá, E., Molnár, J. & Račeková, E. 2021. Potential influence of prenatal 2.45 GHz radiofrequency electromagnetic field exposure on Wistar albino rat testis. *Histology and Histopathology* 36(6): 685-696.
- Alsaleem, F., Thompson, J. S., Laurenson, D. L, Podilchak, S. K. & Alistarh, C. A. 2020. Small-size blockage measurements and modelling for mmWave communications systems. *IEEE International Symposium on Personal, Indoor and Mobile Radio Communications, PIMRC*.
- Asadi, A., Ghahremani, R., Abdolmaleki, A. & Rajaei, F. 2021. Role of sperm apoptosis and oxidative stress in male infertility: A narrative review. *Int J Reprod Biomed* 19(6): 493-504.
- Asif, S. M., Iftikhar, A., Maile, K., Ewert, D. L. & Braaten, B. D. 2018. On the computation and comparison of specific absorption rate (SAR) in a skin tissue using analytical and numerical methods. *Microwave and Optical Technology Letters* 60(9): 2277-2284.
- Assefa, E. M. & Abdu, S. M. 2025. Histopathologic effects of mobile phone radiation exposure on the testes and sperm parameters: a systematic literature review of animal studies. *Frontiers in Reproductive Health* 6: 1515166.
- Aubrey, B. J., Kelly, G. L., Janic, A., Herold, M. J. & Strasser, A. 2018. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death & Differentiation* 25(1): 104-113.
- Baker-Jarvis, J. & Kim, S. 2012. The Interaction of Radio-Frequency Fields With Dielectric Materials at Macroscopic to Mesoscopic Scales. *J Res Natl Inst Stand Technol* 117: 1-60.

- Betts, J. G., Young, K. A., Wise, J. A., Johnson, E., Poe, B., Kruse, D. H., Korol, O., Johnson, J. E., Womble, M. & Desaix, P. 2013. *Anatomy and Physiology*. Houston, Texas: OpenStax.
- Bhargava, D., Rattanadecho, P. & Wessapan, T. 2020. The effect of metal objects on the SAR and temperature increase in the human head exposed to dipole antenna (numerical analysis). *Case Studies in Thermal Engineering* 22: 100789.
- Bhattacharya, I., Dey, S. & Banerjee, A. 2023. Revisiting the gonadotropic regulation of mammalian spermatogenesis: evolving lessons during the past decade. *Frontiers in Endocrinology* Volume 14 - 2023.
- Biowei, G., Adekola, S. A. & Amusa, K. A. 2024. Millimeter Wave Energy Absorption by Human Tissues: Evaluation of Tissue Penetration. *Iranian Journal of Electrical and Electronic Engineering* 20(3).
- Björndahl, L. & Kirkman Brown, J. 2022. The sixth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen: ensuring quality and standardization in basic examination of human ejaculates. *Fertility and Sterility* 117(2): 246-251.
- Boguenet, M., Bouet, P.-E., Spiers, A., Reynier, P. & May-Panloup, P. 2021. Mitochondria: their role in spermatozoa and in male infertility. *Human Reproduction Update* 27(4): 697-719.
- Boitrelle, F., Shah, R., Saleh, R., Henkel, R., Kandil, H., Chung, E., Vogiatzi, P., Zini, A., Arafa, M. & Agarwal, A. 2021. The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis. *Life (Basel)* 11(12).
- Bonato, M., Dossi, L., Fiocchi, S., Gallucci, S., Benini, M., Chiaramello, E., Tognola, G. & Parazzini, M. 2022a. Computational Assessment of RF Exposure Levels due to 5G Mobile Phones. *Mediterranean Microwave Symposium*.
- Bonato, M., Dossi, L., Gallucci, S., Benini, M., Tognola, G. & Parazzini, M. 2022b. Assessment of Human Exposure Levels Due to Mobile Phone Antennas in 5G Networks. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19(3).
- Bortkiewicz, A. 2019. Health effects of Radiofrequency Electromagnetic Fields (RF EMF). *Ind Health* 57(4): 403-405.
- Bushberg, J. T., Chou, C. K., Foster, K. R., Kavet, R., Maxson, D. P., Tell, R. A. & Ziskin, M. C. 2020. IEEE committee on man and radiation - COMAR technical information statement: Health and safety issues concerning exposure of the general public to electromagnetic energy from 5G wireless communications networks. *Health Physics* 119(2): 236-246.
- Butković, I., Vince, S., Lojkić, M., Folnožić, I., Tur, S. M., Vilić, M., Malarić, K., Berta, V., Samardžija, M., Kreszinger, M. & Žaja, I. 2024. Effects of 5G

radiofrequency electromagnetic radiation on indicators of vitality and DNA integrity of in vitro exposed boar semen. *Theriogenology* 230: 243-249.

Cai, H., Qin, D. & Peng, S. 2021. Responses and coping methods of different testicular cell types to heat stress: overview and perspectives. *Biosci Rep* 41(6).

Campbell, M. J., Sucquart, I. E., Whittaker, A., Sanganee, H. J., Barratt, C. L. R. & Martins Da Silva, S. J. 2021. Myeloperoxidase inhibitor AZD5904 enhances human sperm function in vitro. *Human Reproduction* 36(3): 560-570.

Cantu, J. C., Butterworth, J. W., Peralta, X. G., Payne, J. A. & Echchgadda, I. 2023. Analysis of global DNA methylation changes in human keratinocytes immediately following exposure to a 900 MHz radiofrequency field. *Bioelectromagnetics* 44(3-4): 77-89.

Cao, H., Liu, S., Cui, S., Nie, H., Liu, X. & Qin, W. 2025. From stress signals to fertility challenges: the role of damage-associated molecular patterns in male reproduction. *Frontiers in Immunology* 16: 1598451.

Cappucci, U., Casale, A. M., Proietti, M., Marinelli, F., Giuliani, L. & Piacentini, L. 2022. WiFi Related Radiofrequency Electromagnetic Fields Promote Transposable Element Dysregulation and Genomic Instability in *Drosophila melanogaster*. *Cells* 11(24): 4036.

Chakraborty, S. & Saha, S. 2022. Understanding sperm motility mechanisms and the implication of sperm surface molecules in promoting motility. *Middle East Fertility Society Journal* 27(1).

Chi, A., Yang, B., Cao, X., Wang, Z., Liu, H., Dai, H., Deng, C. & Zhang, M. 2022. ICA II Alleviates Testicular Torsion Injury by Dampening the Oxidative and Inflammatory Stress. *Frontiers in Endocrinology* 13.

Chiaromello, E., Bonato, M., Fiocchi, S., Tognola, G., Parazzini, M., Ravazzani, P. & Wiart, J. 2019. Radio Frequency Electromagnetic Fields Exposure Assessment in Indoor Environments: A Review. *Int J Environ Res Public Health* 16(6).

Chiba, K., Ramasamy, R., Lamb, D. J. & Lipshultz, L. I. 2016. The Varicocele: Diagnostic Dilemmas, Therapeutic Challenges and Future Perspectives. *Asian Journal of Andrology* 18(2): 276.

Chittimoju, G. & Yalavarthi, U. D. 2021. A Comprehensive Review on Millimeter Waves Applications and Antennas. *Journal of Physics: Conference Series*.

Chu, K. Y., Khodamoradi, K., Blachman-Braun, R., Dullea, A., Bidhan, J., Campbell, K., Zizzo, J., Israeli, J., Kim, M., Petrella, F., Ibrahim, E. & Ramasamy, R. 2023. Effect of Radiofrequency Electromagnetic Radiation Emitted by Modern Cellphones on Sperm Motility and Viability: An In Vitro Study. *European Urology Focus* 9(1): 69-74.

- Chung, E., Atmoko, W., Saleh, R., Shah, R. & Agarwal, A. 2024. Sixth edition of the World Health Organization laboratory manual of semen analysis: Updates and essential take away for busy clinicians. *Arab J Urol* 22(2): 71-74.
- Colombi, D., Thors, B., Törnevik, C. & Balzano, Q. 2018. RF Energy Absorption by Biological Tissues in Close Proximity to Millimeter-Wave 5G Wireless Equipment. *IEEE Access* 6: 4974-4981.
- Cordelli, E., Ardoino, L., Benassi, B., Consales, C., Eleuteri, P., Marino, C., Sciortino, M., Villani, P., Brinkworth, M. H., Chen, G. D., Mcnamee, J. P., Wood, A. W., Belackova, L., Verbeek, J. & Pacchierotti, F. 2024. Effects of radiofrequency electromagnetic field (RF-EMF) exposure on male fertility: A systematic review of experimental studies on non-human mammals and human sperm in vitro. *Environment International* 185.
- Cui, Y., Liu, P., Yu, S., He, J., Afedo, S. Y., Zou, S., Zhang, Q., Liu, J., Song, L., Xu, Y., Wang, T. & Li, H. 2022. Expression Analysis of Molecular Chaperones Hsp70 and Hsp90 on Development and Metabolism of Different Organs and Testis in Cattle (Cattle-yak and Yak). *Metabolites* 12(11): 1114.
- Danyo, E. K., Ivantsova, M. N. & Selezneva, I. S. 2024. Ionizing radiation effects on microorganisms and its applications in the food industry. *Foods and Raw Materials* 12(1): 1-12.
- De Iuliis, G. N., Newey, R. J., King, B. V. & Aitken, R. J. 2009. Mobile phone radiation induces reactive oxygen species production and DNA damage in human spermatozoa in vitro. *PloS one* 4(7).
- De Queiroz, T. M., Lakkappa, N. & Lazartigues, E. 2020. ADAM17-Mediated Shedding of Inflammatory Cytokines in Hypertension. *Frontiers in Pharmacology* 11: 01154.
- De Vocht, F. & Albers, P. 2022. The population health effects from 5G: Controlling the narrative. *Front Public Health* 10: 1082031.
- Deaconescu, D. & Miclăuş, S. 2020. A Computational Study Of 2.4 And 3.7 Ghz Radiations Deposition Inside Models Made Of Human Tissues Placed Nearby A Microstrip Antenna. *International Conference Knowledge-Based Organization*.
- Deberge, M. P., Ely, K. H., Wright, P. F., Thorp, E. B. & Enelow, R. I. 2015. Shedding of TNF receptor 2 by effector CD8⁺ T cells by ADAM17 is important for regulating TNF- α availability during influenza infection. *J Leukoc Biol* 98(3): 423-434.
- Demirbağ, B., Aktaş, S., Çömelekoğlu, Ü., Kara, İ., Yildirim, M. & Yildirim, D. D. 2023. Protective effect of paricalcitol in rat testicular damage induced by subchronic 1800 MHz radiofrequency radiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 680: 42-50.

- Deng, M., Loughran, P. A., Zhang, L., Scott, M. J. & Billiar, T. R. 2015. Shedding of the tumor necrosis factor (TNF) receptor from the surface of hepatocytes during sepsis limits inflammation through cGMP signaling. *Sci Signal* 8(361): ra11.
- Diao, L., Turek, P. J., John, C. M., Fang, F. & Reijo Pera, R. A. 2022. Roles of Spermatogonial Stem Cells in Spermatogenesis and Fertility Restoration. *Frontiers in Endocrinology* 13: 895528.
- Diao, Y., Rashed, E. A. & Hirata, A. 2020. Assessment of absorbed power density and temperature rise for nonplanar body model under electromagnetic exposure above 6 GHz. *Physics in Medicine & Biology* 65(22): 224001.
- Dréan, Y. L., Mahamoud, Y. S., Page, Y. L., Habauzit, D., Quément, C. L., Zhadobov, M. & Sauleau, R. 2013. State of knowledge on biological effects at 40–60 GHz. *Comptes Rendus. Physique* 14(5): 402-411.
- Durairajanayagam, D., Agarwal, A. & Ong, C. 2015. Causes, effects and molecular mechanisms of testicular heat stress. *Reproductive BioMedicine Online* 30(1): 14-27.
- Ebrahimi, N. D., Shojaei-Zarghani, S., Taherifard, E., Dastghaib, S., Parsa, S., Mohammadi, N., Sarvestani, F. S., Moayedfard, Z., Hosseini, N., Safarpour, H., Sadeghi, A., Azarpira, N. & Safarpour, A. R. 2023. Protective Effects of Melatonin Against Physical Injuries to Testicular Tissue: A Systematic Review and Meta-Analysis of Animal Models. *Frontiers in Endocrinology* 14: 1123999.
- Eddy, E. M. 1999. Role of heat shock protein HSP70-2 in spermatogenesis. *Rev Reprod* 4(1): 23-30.
- Eisinger Balassa, B., Nagy, N. G. & Gyurián, N. 2024. Perception and social acceptance of 5G technology for sustainability development. *Journal of Cleaner Production* 467: 142964.
- Eker, E., Arslan, B., Yildirim, M., Akar, A. & Aras, N. 2018. The effect of exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation on epidermal growth factor, caspase-3, Hsp27 and p38MAPK gene expressions in the rat eye. *Bratisl Lek Listy* 119(9): 588-592.
- Encyclopedia Britannica 2024. Spermatogenesis. Encyclopedia Britannica. Rogers, K.
- Esteves, S. C. & Humaidan, P. 2025. The role of luteinizing hormone activity in spermatogenesis: from physiology to clinical practice. *Reprod Biol Endocrinol* 23(Suppl 1): 6.
- Evgeni, E. & Kothari, P. 2024. Sperm Motility. Dlm. *Human Semen Analysis: from the WHO Manual to the Clinical Management of Infertile Men*, hlm. 61-101.
- Falzone, N., Huyser, C., Becker, P., Leszczynski, D. & Franken, D. R. 2011. The effect of pulsed 900-MHz GSM mobile phone radiation on the acrosome reaction, head morphometry and zona binding of human spermatozoa. *International Journal of Andrology* 34(1): 20-26.

- Fatah, A. H., Palani, A. F. & Aziz, B. K. 2023. Effect of Lipid Peroxidation on Sperm Motility in Asthenozoospermia Infertile Men. *Passer Journal of Basic and Applied Sciences* 5(1): 72-77.
- Foroughimehr, N., Clayton, A. H. A. & Yavari, A. 2024. Exploring Skin Interactions with 5G Millimeter-Wave through Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy. *Electronics* 13(9): 1630.
- Foroughimehr, N., Vilagosh, Z., McIntosh, R., Wood, A. & Yavari, A. 2025. Interaction of 5G mid-band and mmWave electromagnetic fields with the murine fetus. *Environmental Research* 274: 121188.
- Foster, K. & Tell, R. 2021. Radiofrequency Electromagnetic Fields. Dlm. hlm. 1-32.
- Foster, K. R., Ziskin, M. C. & Balzano, Q. 2022. Three Quarters of a Century of Research on RF Exposure Assessment and Dosimetry-What Have We Learned? *Int J Environ Res Public Health* 19(4).
- Foster, K. R., Ziskin, M. C., Balzano, Q. & Bit-Babik, G. 2018. Modeling Tissue Heating From Exposure to Radiofrequency Energy and Relevance of Tissue Heating to Exposure Limits: Heating Factor. *Health Phys* 115(2): 295-307.
- Funahashi, D., Hirata, A., Kodera, S. & Foster, K. R. 2018. Area-Averaged Transmitted Power Density at Skin Surface as Metric to Estimate Surface Temperature Elevation. *IEEE Access* 6: 77665-77674.
- Gabriel, C., Gabriel, S. M. & Corthout, E. 1996a. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey. *Physics in Medicine & Biology* 41(11): 2231-2249.
- Gabriel, C., Gabriel, S. M. & Corthout, E. 1996b. The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz. *Physics in Medicine & Biology* 41(11): 2251-2269.
- Gabriel, C., Gabriel, S. M. & Corthout, E. 1996c. The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues. *Physics in Medicine & Biology* 41(11): 2271.
- Gao, Y., Wang, C., Wang, K., He, C., Hu, K. & Liang, M. 2022. The effects and molecular mechanism of heat stress on spermatogenesis and the mitigation measures. *Systems Biology in Reproductive Medicine* 68(5-6): 331-347.
- Gaponenkov, I., Fedorova, O., Vasilyeva, Z. & Krepkai, T. 2019. Microwave heating in industry. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Ghafari-zadeh, A. A., Malmir, M., Naderi Noreini, S., Faraji, T. & Ebrahimi, Z. 2021. The effect of vitamin E on sperm motility and viability in asthenoteratozoospermic men: In vitro study. *Andrologia* 53(1).
- Gherardini, L., Ciuti, G., Tognarelli, S. & Cinti, C. 2014. Searching for the Perfect Wave: The Effect of Radiofrequency Electromagnetic Fields on Cells. *International Journal of Molecular Sciences* 15(4): 5366-5387.

- Grant, E. J. & Hoel, D. G. 2024. Ionizing radiation. Dlm. *Textbook of Children's Environmental Health: Second Edition*, hlm. 602-616.
- Griswold, M. D. 2016. Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. *Physiol Rev* 96(1): 1-17.
- Gu, C., Fan, X. & Yu, W. 2023. Functional Diversity of Mammalian Small Heat Shock Proteins: A Review. *Cells* 12(15).
- Gui, J., Liu, J. & Zhou, X. 2022. An Efficient Radio Resource Allocation Scheme considering Terminal Mobility in Dense mmWave Cellular Networks. *Wireless Communications and Mobile Computing* 2022(1): 9558031.
- Gulati, S., Mosgoeller, W., Moldan, D., Kosik, P., Durdik, M., Jakl, L., Skorvaga, M., Markova, E., Kochanova, D., Vigasova, K. & Belyaev, I. 2024. Evaluation of oxidative stress and genetic instability among residents near mobile phone base stations in Germany. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 279: 116486.
- Gultekin, D. H. & Siegel, P. H. 2020. Absorption of 5G Radiation in Brain Tissue as a Function of Frequency, Power and Time. *IEEE Access* 8: 115593-115612.
- Guo, L., Lin, J. J., Xue, Y. Z., An, G. Z., Zhang, J. P., Zhang, K. Y., He, W., Wang, H., Li, W. & Ding, G. R. 2019. Effects of 220 MHz pulsed modulated radiofrequency field on the sperm quality in rats. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(7).
- Gurung, P., Tetiskul, E. & Jialal, I. 2023. Physiology, male reproductive system. Dlm. *StatPearls [Internet]*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Hasan, H., Bhushan, S., Fijak, M. & Meinhardt, A. 2022. Mechanism of Inflammatory Associated Impairment of Sperm Function, Spermatogenesis and Steroidogenesis. *Frontiers in Endocrinology* 13: 897029.
- Heath, R. W. 2016. Millimeter Wave: The Future of Commercial Wireless Systems. *Technical Digest - IEEE Compound Semiconductor Integrated Circuit Symposium, CSIC*.
- Hirata, A. & Koder, S. 2020. Difference of ICNIRP Guidelines and IEEE C95.1 Standard for Human Protection from Radio-Frequency Exposures. 2020 *International Symposium on Electromagnetic Compatibility - EMC EUROPE*, hlm 1-5.
- Hirata, A., Koder, S., Sasaki, K., Gomez-Tames, J., Laakso, I., Wood, A., Watanabe, S. & Foster, K. R. 2021. Human exposure to radiofrequency energy above 6 GHz: review of computational dosimetry studies. *Physics in Medicine & Biology* 66(8): 08TR01.
- Holma, H. & Nakamura, T. 2019. Spectrum. Dlm. *5G Technology: 3GPP New Radio*, hlm. 49-65.

- Holma, H. & Nakamura, T. 2024. Spectrum. Dlm. *5G Technology: 3GPP Evolution to 5G-Advanced, Second Edition*, hlm. 49-65.
- Houston, B. J., Nixon, B., King, B. V., De Iuliis, G. N. & Aitken, R. J. 2016. The effects of radiofrequency electromagnetic radiation on sperm function. *Reproduction* 152(6): R263-R276.
- Huang, Y., Li, X., Sun, X., Yao, J., Gao, F., Wang, Z., Hu, J., Wang, Z., Ouyang, B., Tu, X., Zou, X., Liu, W., Lu, M., Deng, C., Yang, Q. & Xie, Y. 2022. Anatomical Transcriptome Atlas of the Male Mouse Reproductive System During Aging. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9: 782824.
- Hunter, N. 2015. Meiotic Recombination: The Essence of Heredity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7(12): a016618.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 2011. IARC Classifies Radiofrequency Electromagnetic Fields As Possibly Carcinogenic To Humans. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP). 2020. Guidelines for Limiting Exposure to Electromagnetic Fields (100 kHz to 300 GHz). *Health Physics* 118(5): 483-524.
- Ikwegbue, P. C., Masamba, P., Oyinloye, B. E. & Kappo, A. P. 2018. Roles of Heat Shock Proteins in Apoptosis, Oxidative Stress, Human Inflammatory Diseases, and Cancer. *Pharmaceuticals* 11(1): 2.
- Intakhab, B. & Maqbool, M. 2023. Types of non-ionizing radiation and its interaction with matter. Dlm. *An Introduction to Non-Ionizing Radiation*, hlm. 21-37.
- Innovation, Science and Economic Development Canada (ISED). 2023. RSS-102, Radio Frequency (RF) Exposure Compliance of Radiocommunication Apparatus (All Frequency Bands). Ottawa: Innovation, Science and Economic Development Canada.
- Jaffar, F. H. F., Osman, K., Ismail, N. H., Chin, K. Y. & Ibrahim, S. F. 2019. Adverse effects of wi-fi radiation on male reproductive system: A systematic review. *Tohoku Journal of Experimental Medicine* 248(3): 169-179.
- Jamaludin, N., Ibrahim, S. F., Jaffar, F. H. F., Zulkefli, A. F. & Osman, K. 2025. The Influence of 2.45 GHz Wi-Fi Exposure Duration on Sperm Quality and Testicular Histopathology: An Exploration of Peroxidative Injury. *Antioxidants* 14(2): 179.
- Jankowska, K., Suszczewicz, N., Rabijewski, M., Dudek, P., Zgliczyński, W. & Maksym, R. B. 2022. Inhibin-B and FSH Are Good Indicators of Spermatogenesis but Not the Best Indicators of Fertility. *Life* 12(4): 511.
- Jeschke, P., Alteköster, C., Hansson Mild, K., Israel, M., Ivanova, M., Schiessl, K., Shalamanova, T., Soyka, F., Stam, R. & Wilén, J. 2022. Protection of Workers Exposed to Radiofrequency Electromagnetic Fields: A Perspective on Open

Questions in the Context of the New ICNIRP 2020 Guidelines. *Frontiers in Public Health* 10: 875946.

Jiang, B., Liang, P., Deng, G., Tu, Z., Liu, M. & Xiao, X. 2011. Increased stability of Bcl-2 in HSP70-mediated protection against apoptosis induced by oxidative stress. *Cell Stress and Chaperones* 16(2): 143-152.

Karipidis, K., Mate, R., Urban, D., Tinker, R. & Wood, A. 2021. 5G mobile networks and health-a state-of-the-science review of the research into low-level RF fields above 6 GHz. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 31(4): 585-605.

Kastelic, J. P. & Rizzoto, G. 2021. Thermoregulation of the Testes. Dlm. *Bovine Reproduction*, hlm. 40-46.

Kastelic, J. P., Rizzoto, G. & Thundathil, J. 2018. Review: Testicular vascular cone development and its association with scrotal thermoregulation, semen quality and sperm production in bulls. *Animal* 12(s1): s133-s141.

Kaushik, K., Kaushal, N. & Kalla, N. R. 2018. Conversion of apoptosis to necrosis and the corresponding alteration in the oxidative milieu of male germ cells of rat under acute heat stress: An experimental study. *International Journal of Reproductive BioMedicine* 16(9): 577-586.

Kaushik, K., Kaushal, N., Mittal, P. K. & Kalla, N. R. 2019. Heat induced differential pattern of DNA fragmentation in male germ cells of rats. *Journal of Thermal Biology* 84: 351-356.

Kayode, O. T., Rotimi, D., Kayode, A. a. A., Olaolu, T. D. & Adeyemi, O. S. 2020. Monosodium Glutamate (MSG)-Induced Male Reproductive Dysfunction: A Mini Review. *Toxics* 8(1): 7.

Kenny, J. 2024. Developing a practical and realistic SAR test programme. *Electronics World* 129(2039): 20-21.

Kenny, R. P., Evelynne Johnson, E., Adesanya, A. M., Richmond, C., Beyer, F., Calderon, C., Rankin, J., Pearce, M. S., Toledano, M., Craig, D. & Pearson, F. 2024. The effects of radiofrequency exposure on male fertility: A systematic review of human observational studies with dose-response meta-analysis. *Environment International* 190: 108817.

Kesari, K. K., Agarwal, A. & Henkel, R. 2018. Radiations and male fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology* 16(1): 118.

Kim, B., Cooke, H. J. & Rhee, K. 2012. DAZL is essential for stress granule formation implicated in germ cell survival upon heat stress. *Development* 139(3): 568-578.

Kim, B., Park, K. & Rhee, K. 2013. Heat stress response of male germ cells. *Cellular and Molecular Life Sciences* 70(15): 2623-2636.

- Kim, J. Y., Kim, H. T., Moon, K. H. & Shin, H. J. 2007. Long-Term Exposure of Rats to a 2.45 GHz Electromagnetic Field: Effects on Reproductive Function. *Korean J Urol* 48(12): 1308-1314.
- Kirimlioglu, E., Oflamaz, A. O., Hidisoglu, E., Ozen, S., Yargicoglu, P. & Demir, N. 2024. Short and long-term 2100 MHz radiofrequency radiation causes endoplasmic reticulum stress in rat testis. *Histochemistry and Cell Biology* 162(4): 311-321.
- Koohestanidehaghi, Y., Khalili, M. A., Dehghanpour, F. & Seify, M. 2024. Detrimental Impact of Cell Phone Radiation on Sperm DNA Integrity. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine* 51(1): 13-19.
- Krzastek, S. C., Farhi, J., Gray, M. & Smith, R. P. 2020. Impact of environmental toxin exposure on male fertility potential. *Translational Andrology and Urology* 9(6): 2797-2813.
- Lai, H. 2021. Genetic effects of non-ionizing electromagnetic fields. *Electromagnetic Biology and Medicine* 40(2): 264-273.
- Lamb, D. J. & Marinaro, J. A. 2023. Can semen parameters predict pregnancy outcomes? *Fertility and Sterility* 120(4): 709-714.
- Lanneau, D., Brunet, M., Frisan, E., Solary, E., Fontenay, M. & Garrido, C. 2008. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 12(3): 743-761.
- Larsson, E. G., Edfors, O., Tufvesson, F. & Marzetta, T. L. 2014. Massive MIMO for next generation wireless systems. *IEEE Communications Magazine* 52(2): 186-195.
- Lee, A. K., Hong, S. E. & Moon, J. I. 2024. Absorbed Power Density in Multilayer Models Based on Human Facial Tissues for 6-300 GHz Plane Wave Incidence. *2024 IEEE Asia-Pacific Microwave Conference (APMC)*, hlm 787-789.
- Lee, H. J., Jin, Y. B., Kim, T. H., Pack, J. K., Kim, N., Choi, H. D., Lee, J. S. & Lee, Y. S. 2012. The effects of simultaneous combined exposure to CDMA and WCDMA electromagnetic fields on rat testicular function. *Bioelectromagnetics* 33(4): 356-364.
- Lehti, M. S. & Sironen, A. 2017. Formation and function of sperm tail structures in association with sperm motility defects. *Biol Reprod* 97(4): 522-536.
- Lemay, E., Gajda, G. B., McGarr, G. W., Zhuk, M. & Paradis, J. 2022. Analysis of ICNIRP 2020 Basic Restrictions for Localized Radiofrequency Exposure in the Frequency Range above 6 GHz. *Health Physics* 123(3): 179-196.
- Li, J., Huang, X., Luo, L., Sun, J., Guo, Q., Yang, X., Zhang, C. & Ni, B. 2024. The role of p53 in male infertility. *Front Endocrinol (Lausanne)* 15: 1457985.

- Li, J., Shen, L., Wang, K., Wu, S., Wang, Y., Pan, Y., Chen, S., Zhao, T., Zhao, Y., Niu, L., Chen, L., Zhang, S., Zhu, L. & Gan, M. 2025. Biogenesis of stress granules and their role in the regulation of stress-induced male reproduction disorders. *Cell Communication and Signaling* 23(1): 84.
- Ling, S. J., Sanny, J. & Moebs, W. 2016. *University Physics Volume 2*. Houston, Texas: OpenStax.
- Liporace, F., Ciarleglio, G., Santonicola, M. G. & Cavagnaro, M. 2024a. Dielectric characterization of biological tissues at microwave frequencies based on water content. *18th European Conference on Antennas and Propagation, EuCAP 2024*.
- Liporace, F., Ciarleglio, G., Santonicola, M. G. & Cavagnaro, M. 2024b. Reconstruction of the Permittivity of Ex Vivo Animal Tissues in the Frequency Range 1–20 GHz Using a Water-Based Dielectric Model. *Sensors* 24(16).
- Liu, Q., Si, T., Xu, X., Liang, F., Wang, L. & Pan, S. 2015. Electromagnetic radiation at 900 MHz induces sperm apoptosis through bcl-2, bax and caspase-3 signaling pathways in rats. *Reproductive Health* 12(1).
- Liu, S., Liu, Y., Bao, E. & Tang, S. 2024. The Protective Role of Heat Shock Proteins against Stresses in Animal Breeding. *International Journal of Molecular Sciences* 25(15): 8208.
- López-Martín, E., Jorge-Barreiro, F. J., Relova-Quintero, J. L., Salas-Sánchez, A. A. & Ares-Pena, F. J. 2021. Exposure to 2.45 GHz radiofrequency modulates calcitonin-dependent activity and HSP-90 protein in parafollicular cells of rat thyroid gland. *Tissue and Cell* 68: 101478.
- López Perez, J. I., Serna Maldonado, R. D., Bermeo Varon, L. A. & Castillo García, J. F. 2020. Estimation of Electrical Conductivity from Radiofrequency Hyperthermia Therapy for Cancer Treatment by Levenberg Marquardt Method. *Communications in Computer and Information Science*, hlm 141-152.
- Loveland, K. L., Klein, B., Pueschl, D., Indumathy, S., Bergmann, M., Loveland, B. E., Hedger, M. P. & Schuppe, H.-C. 2017. Cytokines in Male Fertility and Reproductive Pathologies: Immunoregulation and Beyond. *Frontiers in Endocrinology* 8: 307.
- Luaces, J. P., Toro-Urrego, N., Otero-Losada, M. & Capani, F. 2023. What do we know about blood-testis barrier? current understanding of its structure and physiology. *Front Cell Dev Biol* 11: 1114769.
- Lukac, N., Massanyi, P., Roychoudhury, S., Capcarova, M., Tvrdá, E., Knazicka, Z., Kolesarova, A. & Danko, J. 2011. In vitro effects of radiofrequency electromagnetic waves on bovine spermatozoa motility. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 46(12): 1417-1423.

- Mailankot, M., Kunnath, A. P., Jayalekshmi, H., Koduru, B. & Valsalan, R. 2009. Radio Frequency Electromagnetic Radiation (RF-EMR) From GSM (0.9/1.8GHz) Mobile Phones Induces Oxidative Stress and Reduces Sperm Motility in Rats. *Clinics* 64(6): 561-565.
- Maluin, S. M., Osman, K., Jaffar, F. H. F. & Ibrahim, S. F. 2021. Effect of Radiation Emitted by Wireless Devices on Male Reproductive Hormones: A Systematic Review. *Frontiers in Physiology* 12: 732420.
- Martínez-Prado, E. & Camejo Bermúdez, M. I. 2010. Expression of IL-6, IL-8, TNF- α , IL-10, HSP-60, Anti-HSP-60 Antibodies, and Anti-sperm Antibodies, in Semen of Men with Leukocytes and/or Bacteria. *American Journal of Reproductive Immunology* 63(3): 233-243.
- Mayuri, M., Vijayalakshmi, B. & Sindhubala, K. 2015. Biomedical data transmission using visible light communication. *International Journal of Applied Engineering Research* 10(20): 18056-18060.
- Suruhanjaya Komunikasi dan Multimedia Malaysia (MCMC). 2019. National 5G Task Force Report. Cyberjaya, Selangor: Suruhanjaya Komunikasi dan Multimedia Malaysia.
- Suruhanjaya Komunikasi dan Multimedia Malaysia (MCMC). 2025. Internet Users Survey 2024. Cyberjaya, Selangor: Suruhanjaya Komunikasi dan Multimedia Malaysia.
- Meyer, F., Bitsch, A., Forman, H. J., Fragoulis, A., Ghezzi, P., Henschenmacher, B., Kellner, R., Kuhne, J., Ludwig, T., Sachno, D., Schmid, G., Tsaion, K., Verbeek, J. & Wright, R. 2024. The effects of radiofrequency electromagnetic field exposure on biomarkers of oxidative stress in vivo and in vitro: A systematic review of experimental studies. *Environment International* 194.
- Minas, A., Mahmoudabadi, S., Gamchi, N. S., Antoniassi, M. P., Alizadeh, A. & Bertolla, R. P. 2023. Testicular Torsion in Vivo Models: Mechanisms and Treatments. *Andrology* 11(7): 1267-1285.
- Miura, N., Koder, S., Diao, Y., Higashiyama, J., Suzuki, Y. & Hirata, A. 2021. Power Absorption and Skin Temperature Rise From Simultaneous Near-Field Exposure at 2 and 28 GHz. *IEEE Access* 9: 152140-152149.
- Miyata, H., Shimada, K., Kaneda, Y. & Ikawa, M. 2024. Development of functional spermatozoa in mammalian spermiogenesis. *Development* 151(14): 202838.
- Mohamed, M. Z., Morsy, M. A., Mohamed, H. H. & Hafez, H. M. 2020. Paeonol Protects Against Testicular Ischaemia-reperfusion Injury in Rats Through Inhibition of Oxidative Stress and Inflammation. *Andrologia* 52(6).
- Mokarram, P., Sheikhi, M., Mortazavi, S. M. J., Saeb, S. & Shokrpour, N. 2017. Effect of exposure to 900 MHz GSM mobile phone radiofrequency radiation on estrogen receptor methylation status in colon cells of male sprague dawley rats. *Journal of Biomedical Physics and Engineering* 7(1): 79-86.

- Morini, M., Moro, E., Filippini, I. & Capone, A. 2023. Will the Upper 6 GHz Bands Work for 5G NR?: A Urban Field Trial. *ACM WiNTECH 2023 - Proceedings of the 2023 17th ACM Workshop on Wireless Network Testbeds, Experimental Evaluation and Characterization, Part of MobiCom 2023*, hlm 49-55.
- Mortimer, D. 2020. A technical note on the assessment of human sperm vitality using eosin–nigrosin staining. *Reproductive BioMedicine Online* 40(6): 851-855.
- Mruk, D. D. & Cheng, C. Y. 2015. The Mammalian Blood-Testis Barrier: Its Biology and Regulation. *Endocr Rev* 36(5): 564-591.
- Naarala, J., Kolehmainen, M. & Juutilainen, J. 2019. Electromagnetic Fields, Genomic Instability and Cancer: A Systems Biological View. *Genes (Basel)* 10(6).
- O' Donnell, L., Smith, L. B. & Rebourcet, D. 2022. Sertoli cells as key drivers of testis function. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 121: 2-9.
- O' Donnell, L., Stanton, P. & De Kretser, D. M. 2017. *Endocrinology of the Male Reproductive System and Spermatogenesis*. MDText.com, Inc., South Dartmouth (MA).
- Obukohwo, O. M., Kingsley, N. E., Rume, R. A. & Emojevwe, V. 2022. The Concept of Male Reproductive Anatomy.
- Odaci, E., Hanci, H., Yulug, E., Türedi, S., Aliyazicioglu, Y., Kay, H. & Çolakoglu, S. 2016. Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on 60-day-old rat testis and epididymal sperm quality. *Biotechnic & Histochemistry* 91(1): 9-19.
- Odaci, E. & Özyilmaz, C. 2015. Exposure to a 900 MHz electromagnetic field for 1 hour a day over 30 days does change the histopathology and biochemistry of the rat testis. *International Journal of Radiation Biology* 91(7): 547-554.
- Oduwole, O. O., Huhtaniemi, I. T. & Misrahi, M. 2021. The Roles of Luteinizing Hormone, Follicle-Stimulating Hormone and Testosterone in Spermatogenesis and Folliculogenesis Revisited. *Int J Mol Sci* 22(23).
- Ohtani, S., Ushiyama, A., Maeda, M., Hattori, K., Kunugita, N., Wang, J. & Ishii, K. 2016. Exposure time-dependent thermal effects of radiofrequency electromagnetic field exposure on the whole body of rats. *Journal of Toxicological Sciences* 41(5): 655-666.
- Omer, H. 2021. Radiobiological effects and medical applications of non-ionizing radiation. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28(10): 5585-5592.
- Oyewopo, A. O., Olaniyi, S. K., Oyewopo, C. I. & Jimoh, A. T. 2017. Radiofrequency electromagnetic radiation from cell phone causes defective testicular function in male Wistar rats. *Andrologia* 49(10).
- Pall, M. L. 2015. Scientific evidence contradicts findings and assumptions of Canadian Safety Panel 6: microwaves act through voltage-gated calcium channel

activation to induce biological impacts at non-thermal levels, supporting a paradigm shift for microwave/lower frequency electromagnetic field action. *Reviews on Environmental Health* 30(2): 99-116.

Panagopoulos, D. J., Johansson, O. & Carlo, G. L. 2015. Polarization: A Key Difference between Man-made and Natural Electromagnetic Fields, in regard to Biological Activity. *Scientific Reports* 5(1): 14914.

Panagopoulos, D. J., Karabarbounis, A., Yakymenko, I. & Chrousos, G. P. 2021. Human-made electromagnetic fields: Ion forced-oscillation and voltage-gated ion channel dysfunction, oxidative stress and DNA damage (Review). *Int J Oncol* 59(5): 92.

Parham, F., Portier, C. J., Chang, X. & Mevissen, M. 2016. The Use of Signal-Transduction and Metabolic Pathways to Predict Human Disease Targets from Electric and Magnetic Fields Using in vitro Data in Human Cell Lines. *Frontiers in Public Health* Volume 4 - 2016.

Perrard, M.-H., Sereni, N., Schluth-Bolard, C., Blondet, A., D'Estaing, S. G., Plotton, I., Morel-Journel, N., Lejeune, H., David, L. & Durand, P. 2016. Complete Human and Rat Ex Vivo Spermatogenesis from Fresh or Frozen Testicular Tissue. *Biology of Reproduction* 95(4).

Pham, S. & Schultz, J. S. 2021. Testicular thermoregulation with respect to spermatogenesis and contraception. *J Therm Biol* 99: 102954.

Picut, C. A. & Remick, A. K. 2017. Impact of Age on the Male Reproductive System from the Pathologist's Perspective. *Toxicologic Pathology* 45(1): 195-205.

Porter, E., Farrugia, L., Prakash, P., Conceição, R. C., Shrivastava, D., Scapaticci, R., Mandija, S., Cavagnaro, M. & Curto, S. 2024. Current Status and Emerging Techniques for Measuring the Dielectric Properties of Biological Tissues. *ASME Open Journal of Engineering* 3.

Print, C. G. & Loveland, K. L. 2000. Germ cell suicide: new insights into apoptosis during spermatogenesis. *Bioessays* 22(5): 423-430.

Purandhar, K., Jena, P. K., Prajapati, B., Rajput, P. & Seshadri, S. 2014. Understanding the Role of Heat Shock Protein Isoforms in Male Fertility, Aging and Apoptosis. *wjmh* 32(3): 123-132.

Qian, S., Wei, Z., Yang, W., Huang, J., Yang, Y. & Wang, J. 2022. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Front Oncol* 12: 985363.

Ramirez-Vazquez, R., Escobar, I., Vandenbosch, G. a. E. & Arribas, E. 2024. Personal exposure to radiofrequency electromagnetic fields: A comparative analysis of international, national, and regional guidelines. *Environmental Research* 246.

Rappaport, T. S., Xing, Y., Maccartney, G. R., Molisch, A. F., Mellios, E. & Zhang, J. 2017. Overview of Millimeter Wave Communications for Fifth-Generation

- (5G) Wireless Networks-With a Focus on Propagation Models. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation* 65(12): 6213-6230.
- Rasmussen, J. M. K., Dalgaard, M. I. R., Alipour, H., Dardmeh, F. & Christiansen, O. B. 2024. Seminal Oxidative Stress and Sperm DNA Fragmentation in Men from Couples with Infertility or Unexplained Recurrent Pregnancy Loss. *J Clin Med* 13(3).
- Rathebe, P. C. 2023. Radiofrequency Electromagnetic Fields and Health Impacts- An Overview of the Literature. *International Conference on Electrical, Computer and Energy Technologies, ICECET 2023*.
- Ravaioli, F., Bacalini, M. G., Giuliani, C., Pellegrini, C., D'silva, C., De Fanti, S., Pirazzini, C., Giorgi, G. & Del Re, B. 2023. Evaluation of DNA Methylation Profiles of LINE-1, Alu and Ribosomal DNA Repeats in Human Cell Lines Exposed to Radiofrequency Radiation. *International Journal of Molecular Sciences* 24(11).
- Ray, K. P. 2024. Introduction to Important Concepts of RF, Microwaves, and mm Waves Technologies. Dlm. *Signals and Communication Technology*, Part F3341. hlm. 1-15.
- Redmayne, M. & Maisch, D. R. 2023. ICNIRP Guidelines' Exposure Assessment Method for 5G Millimetre Wave Radiation May Trigger Adverse Effects. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 20(7).
- Reiner-Benaim, A., Har-Vardi, I., Kloog, I. & Wainstock, T. 2024. The use of time-dynamic patterns of temperature and flexible generalized models to clarify the relations between temperature and semen quality. *Science of the Total Environment* 948.
- Righini, M. F., Durham, A. & Tsoutsou, P. G. 2024. Hyperthermia and radiotherapy: physiological basis for a synergistic effect. *Front Oncol* 14: 1428065.
- Rodrigues, D. B., Dobsicek-Trefna, H., Curto, S., Winter, L., Molitoris, J. K., Vrba, J., Vrba, D., Sumser, K. & Paulides, M. M. 2022. 9 - Radiofrequency and microwave hyperthermia in cancer treatment. Dlm. Prakash, P. & Srimathveeravalli, G. (pnyt.) *Principles and Technologies for Electromagnetic Energy Based Therapies*, hlm. 281-311. Academic Press.
- Romeo, S., Zeni, O., Scarfi, M. R., Poeta, L., Lioi, M. B. & Sannino, A. 2022. Radiofrequency Electromagnetic Field Exposure and Apoptosis: A Scoping Review of In Vitro Studies on Mammalian Cells. *International Journal of Molecular Sciences* 23(4): 2322.
- Rosyada, Z. N. A., Ulum, M. F., Tumbelaka, L., Solihin, D. D., Purwantara, B. & Memili, E. 2022. Implications of sperm heat shock protein 70-2 in bull fertility. *Vet World* 15(6): 1456-1466.
- Rotimi, D. E. & Singh, S. K. 2024. Implications of lifestyle factors on male reproductive health. *JBRA Assist Reprod* 28(2): 320-330.

- Russo, G. I., Saleh, R., Finocchi, F., Juma, A. R., Durairajanayagam, D., Kahraman, O., Söğütülen, E., Sokolakis, I., Vishwakarma, R. B., Bahar, F., Harraz, A. M., Kavoussi, P., Atmoko, W., Chung, E., Kumar, N., Zohdy, W., Rambhatla, A., Arafa, M., Phuoc, N. H. V., Salvio, G., Calogero, A. E., Toprak, T., Pinggera, G. M., Cannarella, R., Colpi, G., Hamoda, T. a. A., Shah, R. & Agarwal, A. 2024. Impact of Varicocele on Testicular Oxidative Stress and Sperm Parameters in Experimental Animals: A Systematic Review and Meta-Analysis. *World J Mens Health* 42(3): 563-573.
- Sacco, G. & Zhadobov, M. 2024. Physical Interactions Between Millimeter Waves and Human Body: From Macro- to Micro-Scale. *IEEE Journal of Microwaves* 4(3): 318-328.
- Sadeghi, N., Boissonneault, G., Tavalae, M. & Nasr-Esfahani, M. H. 2023. Oxidative versus reductive stress: a delicate balance for sperm integrity. *Syst Biol Reprod Med* 69(1): 20-31.
- Samarth, R., Kumar, M., Matsumoto, Y. & Manda, K. 2019. The effects of ionizing and non-ionizing radiation on health. Dlm. *Recent Trends and Advances in Environmental Health*, hlm. 179-203.
- Santi, D., Crépieux, P., Reiter, E., Spaggiari, G., Brigante, G., Casarini, L., Rochira, V. & Simoni, M. 2020. Follicle-stimulating Hormone (FSH) Action on Spermatogenesis: A Focus on Physiological and Therapeutic Roles. *J Clin Med* 9(4).
- Sasaki, K., Porter, E., Rashed, E. A., Farrugia, L. & Schmid, G. 2022. Measurement and image-based estimation of dielectric properties of biological tissues -past, present, and future. *Phys Med Biol* 67(14).
- Saygin, M., Asci, H., Ozmen, O., Cankara, F. N., Dincoglu, D. & Ilhan, I. 2016. Impact of 2.45 GHz microwave radiation on the testicular inflammatory pathway biomarkers in young rats: The role of gallic acid. *Environmental Toxicology* 31(12): 1771-1784.
- Saygin, M., Caliskan, S., Karahan, N., Koyu, A., Gumral, N. & Uguz, A. 2011. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health* 27(5): 455-463.
- Scientific Committee on Health, Environmental and Emerging Risks (SCHEER). 2023. Final Opinion on the need of a revision of the annexes in Council Recommendation 1999/519/EC and Directive 2013/35/EU, in view of the latest scientific evidence available with regard to radiofrequency (100 kHz - 300 GHz). Luxembourg: European Commission.
- Schisa, J. A. 2019. Germ Cell Responses to Stress: The Role of RNP Granules. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* Volume 7 - 2019.
- Schmid, R. & Benke, G. 2020. Radiation-ionising and non-ionising. Dlm. *Principles of Occupational Health and Hygiene: An introduction, 3rd edition*, hlm. 385-425.

- Schopf, F. H., Biebl, M. M. & Buchner, J. 2017. The HSP90 chaperone machinery. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 18(6): 345-360.
- Schuermann, D. & Mevissen, M. 2021. Manmade Electromagnetic Fields and Oxidative Stress-Biological Effects and Consequences for Health. *Int J Mol Sci* 22(7).
- Sciorio, R., Tramontano, L. & Esteves, S. C. 2022. Effects of mobile phone radiofrequency radiation on sperm quality. *Zygote* 30(2): 159-168.
- Seetharaman, R., Tharun, M., Gayathri, S., Mole, S. S. S. & Anandan, K. 2022. Analysis of specific absorption rate and heat transfer in human head due to mobile phones. *Materials Today: Proceedings* 51: 2365-2374.
- Selmaoui, B. & Touitou, Y. 2021. Association Between Mobile Phone Radiation Exposure and the Secretion of Melatonin and Cortisol, Two Markers of the Circadian System: A Review. *Bioelectromagnetics* 42(1): 5-17.
- Sepehrimanesh, M., Kazemipour, N., Saeb, M. & Nazifi, S. 2014. Analysis of rat testicular proteome following 30-days exposure to 900 MHz electromagnetic field radiation. *Electrophoresis* 35(23): 3331-3341.
- Shahin, S., Singh, S. P. & Chaturvedi, C. M. 2018. 2.45 GHz microwave radiation induced oxidative and nitrosative stress mediated testicular apoptosis: Involvement of a p53 dependent bax-caspase-3 mediated pathway. *Environmental Toxicology* 33(9): 931-945.
- Shakeel, M. & Yoon, M. 2023. Heat stress and stallion fertility. *Journal of Animal Science and Technology* 65(4): 683-697.
- Sharma, P., Kaushal, N., Saleth, L. R., Ghavami, S., Dhingra, S. & Kaur, P. 2023. Oxidative stress-induced apoptosis and autophagy: Balancing the contrary forces in spermatogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1869(6): 166742.
- Shekoohi-Shooli, F., Mortazavi, S., Shojaei-Fard, M., Nematollahi, S. & Tayebi, M. 2016. Evaluation of the protective role of vitamin c on the metabolic and enzymatic activities of the liver in the male rats after exposure to 2.45 GHz of Wi-Fi routers. *Journal of biomedical physics & engineering* 6(3): 157.
- Shokri, S., Soltani, A., Kazemi, M., Sardari, D. & Mofrad, F. B. 2015. Effects of Wi-Fi (2.45 GHz) Exposure on Apoptosis, Sperm Parameters and Testicular Histomorphometry in Rats: A Time Course Study. *Cell Journal (Yakhteh)* 17(2): 322-331.
- Sienkiewicz, Z., Van Rongen, E., Croft, R., Ziegelberger, G. & Veyret, B. 2016. A closer look at the thresholds of thermal damage: workshop report by an ICNIRP task group. *Health Physics*, hlm 300-306.
- Simkó, M. & Mattsson, M. O. 2019. 5G wireless communication and health effects—A pragmatic review based on available studies regarding 6 to 100 GHz.

International Journal of Environmental Research and Public Health 16(18): 3406.

- Simson, D. K., Vashistha, A. & Singh Sethi, J. 2024. Invisible Waves, Visible Consequences: Environmental Radiation's Role in Human Fertility. *Integrative Medicine* 23(6): 10-13.
- Singh, M. K., Sharma, B. & Tiwari, P. K. 2017. The small heat shock protein Hsp27: Present understanding and future prospects. *J Therm Biol* 69: 149-154.
- Singh, M. K., Shin, Y., Ju, S., Han, S., Choe, W., Yoon, K. S., Kim, S. S. & Kang, I. 2024. Heat Shock Response and Heat Shock Proteins: Current Understanding and Future Opportunities in Human Diseases. *Int J Mol Sci* 25(8).
- Sluzala, Z. B., Hamati, A. & Fort, P. E. 2025. Key Role of Phosphorylation in Small Heat Shock Protein Regulation via Oligomeric Disaggregation and Functional Activation. *Cells* 14(2): 127.
- Symeonidis, E. N., Evgeni, E., Palapelas, V., Koumaki, D., Pyrgidis, N., Sokolakis, I., Hatzichristodoulou, G., Tsiampali, C., Mykoniatis, I., Zachariou, A., Sofikitis, N., Kaltsas, A. & Dimitriadis, F. 2021. Redox Balance in Male Infertility: Excellence Through Moderation—"Μέτρον Ἀρίστον". *Antioxidants* 10(10): 1534.
- Tamburrino, L., Traini, G., Marcellini, A., Vignozzi, L., Baldi, E. & Marchiani, S. 2023. Cryopreservation of Human Spermatozoa: Functional, Molecular and Clinical Aspects. *Int J Mol Sci* 24(5).
- Tapping, C. & Cast, J. 2008. Scrotal Ultrasound: A Pictorial Review. *Ultrasound* 16(4): 226-233.
- Tarafder, P. & Choi, W. 2023. Deep Reinforcement Learning-Based Coordinated Beamforming for mmWave Massive MIMO Vehicular Networks. *Sensors* 23(5).
- Teves, M. E. & Roldan, E. R. S. 2022. Sperm bauplan and function and underlying processes of sperm formation and selection. *Physiological Reviews* 102(1): 7-60.
- Tucci, C., Trujillo, M., Berjano, E., Iasiello, M., Andreozzi, A. & Vanoli, G. P. 2021. Pennes' bioheat equation vs. porous media approach in computer modeling of radiofrequency tumor ablation. *Scientific Reports* 11(1): 5272.
- Turgut, A. & Engiz, B. K. 2023. Analyzing the SAR in Human Head Tissues under Different Exposure Scenarios. *Applied Sciences* 13(12): 6971.
- Turick, C. E., Knox, A. S. & Kuhne, W. W. 2012. Radioactive elements in soil: Interactions, health risks, remediation, and monitoring. Dlm. *Soils and Human Health*, hlm. 137-154.

- Unit Perancang Ekonomi. 2021. Dasar Revolusi Perindustrian Keempat (4IR) Negara. Putrajaya: Jabatan Perdana Menteri, Malaysia.
- Vahedi Raad, M., Firouzabadi, A. M., Tofighi Niaki, M., Henkel, R. & Fesahat, F. 2024. The impact of mitochondrial impairments on sperm function and male fertility: a systematic review. *Reproductive Biology and Endocrinology* 22(1): 83.
- Van Dongen, D., Claassen, L., Smid, T. & Timmermans, D. 2013. Peoples responses to risks of electromagnetic fields and trust in government policy: The role of perceived risk, benefits and control. *Journal of Risk Research* 16(8): 945-957.
- Vijay, S., Ibrahim, S. F., Osman, K., Zulkefli, A. F., Mat Ros, M. F., Jamaludin, N., Syed Taha, S. M. A., Hairulazam, A. & Jaffar, F. H. F. 2025. Histomorphometry and sperm quality in male rats exposed to 2.45 GHz Wi-Fi. *Reproduction* 169(5).
- Vijayalaxmi & Foster, K. R. 2021. Improving the Quality of Radiofrequency Bioeffects Research: The Need for a Carrot and a Stick. *Radiation Research* 196(4): 417-422, 416.
- Wadhwa, V., Kashanian, J. A., Schiffman, M. & McClure, T. D. 2021. Varicocele Embolization: Patient Selection: Preprocedure Workup, and Technical Considerations. *Semin Intervent Radiol* 38(2): 176-181.
- Wang, K., Gao, Y., Wang, C., Liang, M., Liao, Y. & Hu, K. 2022. Role of Oxidative Stress in Varicocele. *Front Genet* 13: 850114.
- Wang, X., Kong, L., Kong, F., Qiu, F., Xia, M., Arnon, S. & Chen, G. 2018. Millimeter wave communication: A comprehensive survey. *IEEE Communications Surveys and Tutorials* 20(3): 1616-1653.
- Washburn, R. L. & Dufour, J. M. 2023. Complementing Testicular Immune Regulation: The Relationship between Sertoli Cells, Complement, and the Immune Response. *International Journal of Molecular Sciences* 24(4): 3371.
- Washburn, R. L., Hibler, T., Kaur, G. & Dufour, J. M. 2022. Sertoli Cell Immune Regulation: A Double-Edged Sword. *Frontiers in Immunology* Volume 13 - 2022.
- Wei, Q., Ge, X., Liu, J. & Li, H. 2024. A study on the ambient electromagnetic radiation level of 5G base stations in typical scenarios. *Radiation Detection Technology and Methods* 8(3): 1333-1341.
- Weller, S. & McCredden, J. E. 2024. Understanding the public voices and researchers speaking into the 5G narrative. *Frontiers in Public Health* 11: 1339513.
- Wessapan, T. & Rattanadecho, P. 2018. Temperature induced in human organs due to near-field and far-field electromagnetic exposure effects. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 119: 65-76.

- World Health Organization. 2002. *Establishing a Dialogue on Risks from Electromagnetic Fields*. Geneva: World Health Organization.
- World Health Organization. 2010. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. Fifth Edition. Geneva: World Health Organization.
- World Health Organization. 2020. Radiation: 5G mobile networks and health. <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/radiation-5g-mobile-networks-and-health>
- World Health Organization. 2021. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. Sixth Edition. Geneva: World Health Organization.
- Wu, H., Wang, D., Meng, Y., Ning, H., Liu, X., Xie, Y. H., Cui, L., Wang, S., Xu, X. Y. & Peng, R. 2018. Activation of TLR signalling regulates microwave radiation-mediated impairment of spermatogenesis in rat testis. *Andrologia* 50.
- Wu, H., Wang, D., Shu, Z., Zhou, H., Zuo, H., Wang, S., Li, Y., Xu, X., Li, N. & Peng, R. 2012. Cytokines produced by microwave-radiated Sertoli cells interfere with spermatogenesis in rat testis. *Andrologia* 44(SUPPL.1): 590-599.
- Wust, P., Kortüm, B., Strauss, U., Nadobny, J., Zschaeck, S., Beck, M., Stein, U. & Ghadjar, P. 2020. Non-thermal effects of radiofrequency electromagnetic fields. *Scientific Reports* 10(1): 13488.
- Xu, Y., Chen, W., Wu, X., Zhao, K., Liu, C. & Zhang, H. 2024. The Role of Cells and Cytokines in Male Infertility Induced by Orchitis. *The world journal of men's health* 42.
- Xue, Q., Fang, X. & Xiao, M. 2017. Beam management for millimeter wave beamspace MU-MIMO systems. *2017 IEEE/CIC International Conference on Communications in China, ICCIC 2017*, hlm 1-6.
- Xue, Y., Guo, L., Lin, J., Lai, P., Rui, G., Liu, L., Huang, R., Jing, Y., Wang, F. & Ding, G. 2022. Effects of 5.8 GHz Microwaves on Testicular Structure and Function in Rats. *Biomed Res Int* 2022: 5182172.
- Xue, Y., Zhang, Z., Guo, L., Lai, P., Lin, J., Qin, T., Jing, Y., Wang, X., Zhou, G. & Ding, G. 2023. Effects of 5G mobile phone radiation on sperm quality and sex hormone levels in mice. *Fushe Yanjiu yu Fushe Gongyi Xuebao/Journal of Radiation Research and Radiation Processing* 41(1).
- Yan, S., Ju, Y., Dong, J., Lei, H., Wang, J., Xu, Q., Ma, Y. F., Wang, J. J. & Wang, X. H. 2022. Paternal Radiofrequency Electromagnetic Radiation Exposure Causes Sex-Specific Differences in Body Weight Trajectory and Glucose Metabolism in Offspring Mice. *Frontiers in Public Health* 10: 872198.
- Yavas, M. C., Kilitci, A., Çelik, E., Yegin, K., Sirav, B. & Varol, S. 2024. Rat brain and testicular tissue effects of radiofrequency radiation exposure: Histopathological, DNA damage of brain and qRT-PCR analysis. *International Journal of Radiation Research* 22(3): 529-536.

- Yilmaz, H., Tümkaya, L., Mercantepe, T., Yılmaz, A., Gül, F. & Suzan, Z. T. 2025. Effects of 5 G mobile phone network electromagnetic field exposure on testicular endoplasmic reticulum stress and the protective role of coenzyme Q10. *Archives of Medical Research* 56(4).
- Yurchuk, T., Petrushko, M., Gapon, A., Piniayev, V. & Kuleshova, L. 2021. The impact of cryopreservation on the morphology of spermatozoa in men with oligoasthenoteratozoospermia. *Cryobiology* 100: 117-124.
- Zakariah, M., Molele, R. A., Mahdy, M. a. A., Ibrahim, M. I. A. & McGaw, L. J. 2022. Regulation of spermatogenic cell apoptosis by the pro-apoptotic proteins in the testicular tissues of mammalian and avian species. *Animal Reproduction Science* 247: 107158.
- Zhadobov, M., Chahat, N., Sauleau, R., Le Qument, C. & Le Drean, Y. 2011. Millimeter-wave interactions with the human body: state of knowledge and recent advances. *International Journal of Microwave and Wireless Technologies* 3(2): 237-247.
- Zhang, X. G., Hong, J., Yan, G., Wang, Y., Li, Q. & Hu, J. H. 2015a. Association of heat shock protein 70 with motility of frozen-thawed sperm in bulls. *Czech Journal of Animal Science* 60(6): 256–262.
- Zhang, X. G., Hu, S., Han, C., Zhu, Q. C., Yan, G. J. & Hu, J. H. 2015b. Association of heat shock protein 90 with motility of post-thawed sperm in bulls. *Cryobiology* 70(2): 164-169.
- Zhao, Z., Cai, Y., Lin, X., Liu, N., Qin, Y. & Wu, Y. 2024. The Role of Heat-Induced Stress Granules in the Blood–Testis Barrier of Mice. *International Journal of Molecular Sciences* 25(7): 3637.
- Zirkin, B. R. & Papadopoulos, V. 2018. Leydig cells: formation, function, and regulation. *Biol Reprod* 99(1): 101-111.

LAMPIRAN A

SURAT KELULUSAN JAWATANKUASA ETIKA PENGGUNAAN HAIWAN
(UKMAEC)

JAWATANKUASA ETIKA HAIWAN • ANIMAL ETHICS COMMITTEE

Rujukan: UKM.PPLAEC.800-4/3/1
03hb. Mac, 2023

Dr. Farah Hanan Fathihah Jaffar
Jabatan Fisiologi,
Fakulti Perubatan,
Universiti Kebangsaan Malaysia,
Jalan Yaacob Latif, Bandar Tun Razak,
56000 Kuala Lumpur.

Puan,

Kelulusan Dari Jawatankuasa Etika Penggunaan Haiwan (UKMAEC) Untuk Tajuk:
"The Effect Of High Frequency 5G Network Exposure On Testicular Injury Of Adult Sprague
Dawley Rats".

Dalam mesyuarat UKMAEC pada 15hb. Februari, 2023 telah memutuskan bahawa permohonan
puan diluluskan. Nombor kelulusan adalah seperti berikut:

FP/2023/FARAH HANAN/15-FEB./1310-FEB.-2023-FEB.-2025

Bersama surat ini kami lampirkan sijil kelulusan dengan butiran yang berkaitan. Diharap sijil ini
dapat dimanfaatkan pada masa hadapan. Untuk makluman puan, Borang tamat kajian (berlampir) juga
perlu dikembalikan kepada pihak urusetia setelah kajian tamat berkuat kuasa dari Januari, 2019.

Sekian, terima kasih.

Yang benar,

DR. ANISAH NORDIN
Pengerusi UKMAEC
Universiti Kebangsaan Malaysia

LAMPIRAN A.1

SIJIL KELULUSAN JAWATANKUASA ETIKA PENGGUNAAN HAIWAN
(UKMAEC)

UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA
ANIMAL ETHICS COMMITTEE
 c/o Laboratory Animal Resource Unit
 Faculty of Medicine, UKM
 Jalan Temerloh, 53200 Kuala Lumpur
 Tel: 92895086, 92895091, 92895087

15th February, 2023

UKMAEC APPROVAL NUMBER: FP/2023/FARAH HANAN/15-FEB./1310-
FEB.-2023-FEB.-2025

CHIEF INVESTIGATOR: Dr. Farah Hanan Fathihah Jaffar
 DIVISION/DEPT. OF CHIEF: Department of Physiology,
 INVESTIGATOR: Faculty Of Medicine,
 Universiti Kebangsaan Malaysia

FUNDING INSTITUTION (S): Kementerian Pengajian Tinggi

GRANT NUMBER (S): FRGS/1/2022/SKK06/UKM/03/2

PROJECT TITLE: The Effect Of High Frequency 5G Network
Exposure On Testicular Injury Of Adult Sprague
Dawley Rats

CO-INVESTIGATOR: Assoc. Prof. Dr. Siti Fatimah Ibrahim
 Assoc. Prof. Dr. Khairul Osman
 Mrs. Aini Farzana Zulkefli
 Mr. Mohd Farisyan Mat Ros

STUDENT: Syed Muhamad Asyraf Syed Taha

OTHER AUXILIARIES: -

PROJECT CLASSIFICATION: B

SOURCE OF ANIMALS: LARU

HOUSING-LOCATION OF ANIMALS DURING PROJECT: Level 8, Preclinical Building UKM, Cheras

ESTIMATED DURATION OF PROJECT: From February 2023 to February 2025


 Dr. Anisah Nordin
 Chairperson of UKMAEC
 Universiti Kebangsaan Malaysia




 Muhamad Fakhri Mohd Saleh
 Secretary of UKMAEC
 Universiti Kebangsaan Malaysia

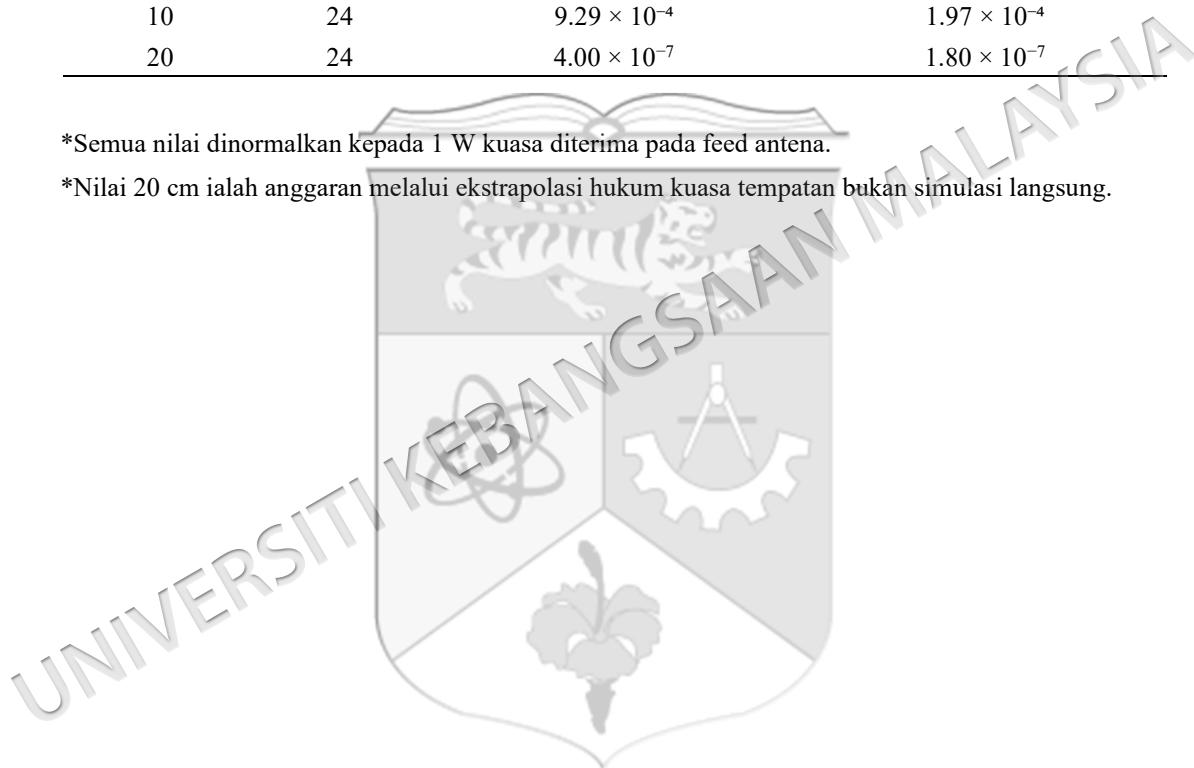
LAMPIRAN B

**NILAI SAR MAKSIMUM 10 G DAN SAR KESELURUHAN BADAN BAGI
PENDEDAHAN 3.5 GHZ DAN 24 GHZ PADA JARAK 5 CM, 10 CM DAN
ANGGARAN 20 CM.**

Jarak (cm)	Frekuensi (GHz)	SAR maksimum (W kg ⁻¹)	SAR keseluruhan (W kg ⁻¹)
5	3.5	0.95	0.22
10	3.5	0.38	0.12
20	3.5	0.15	0.06
5	24	2.15	0.22
10	24	9.29×10^{-4}	1.97×10^{-4}
20	24	4.00×10^{-7}	1.80×10^{-7}

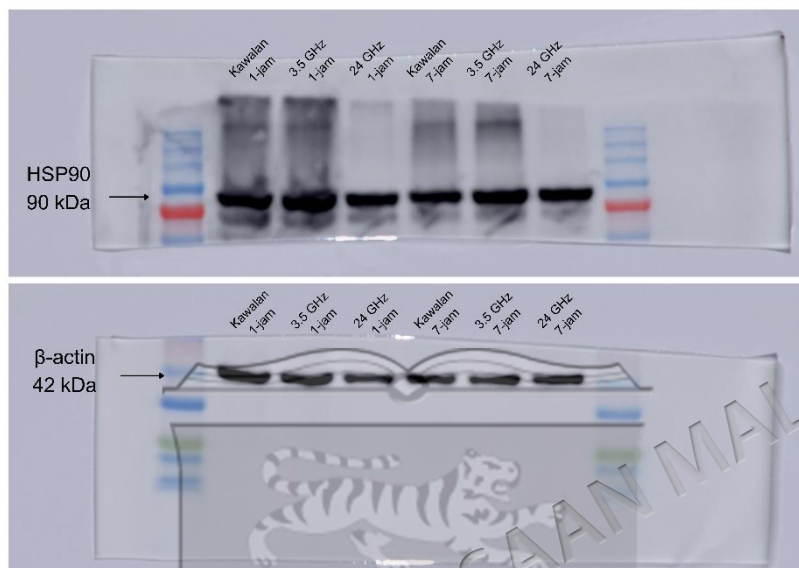
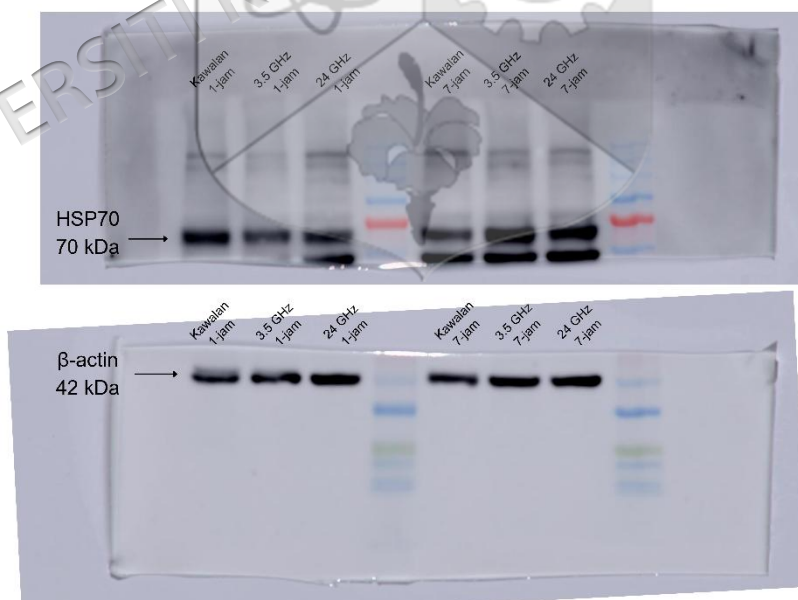
*Semua nilai dinormalkan kepada 1 W kuasa diterima pada feed antenna.

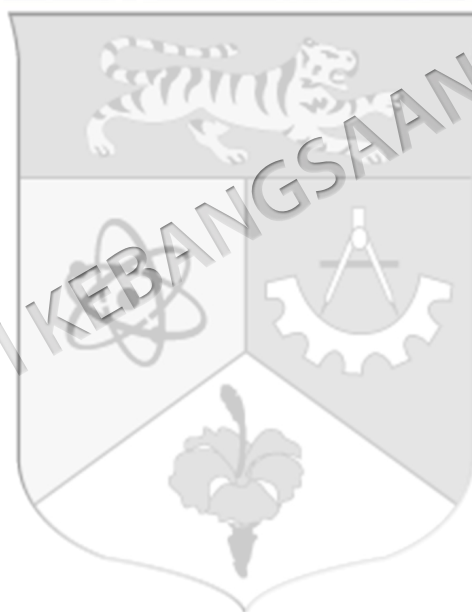
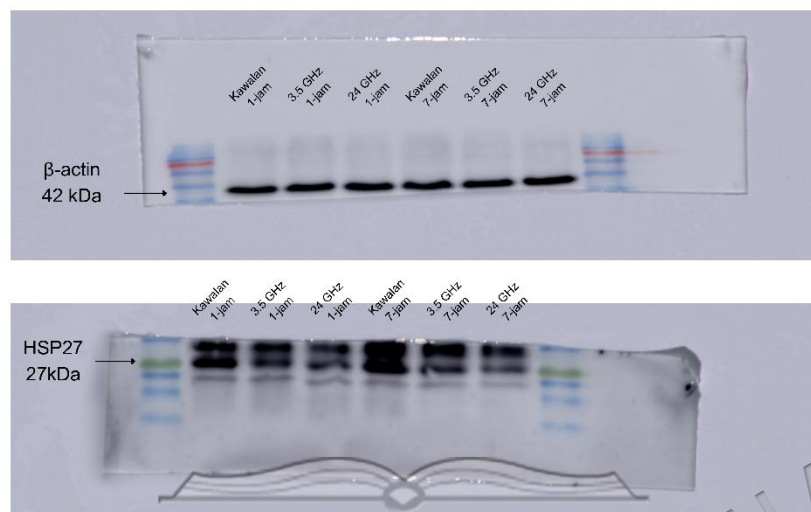
*Nilai 20 cm ialah anggaran melalui ekstrapolasi hukum kuasa tempatan bukan simulasi langsung.



LAMPIRAN C

**GAMBAR ASAL PEMBLOTAN WESTERN TANPA PEMOTONGAN BAGI HSP90,
HSP70, HSP27 DAN B-AKTIN**

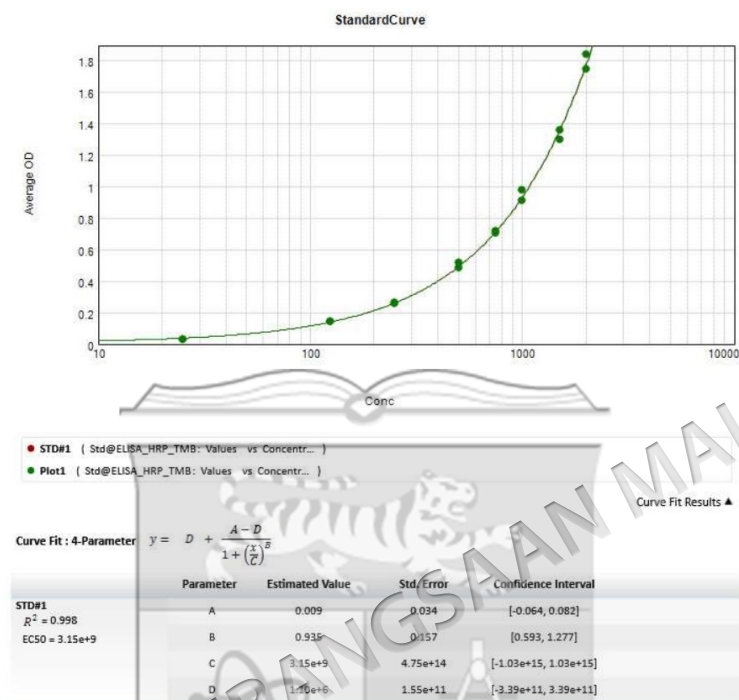
Gambar Asal Blot HSP90 dan β -aktinGambar Asal Blot HSP70 dan β -aktin

Gambar Asal Blot HSP27 dan β -aktin

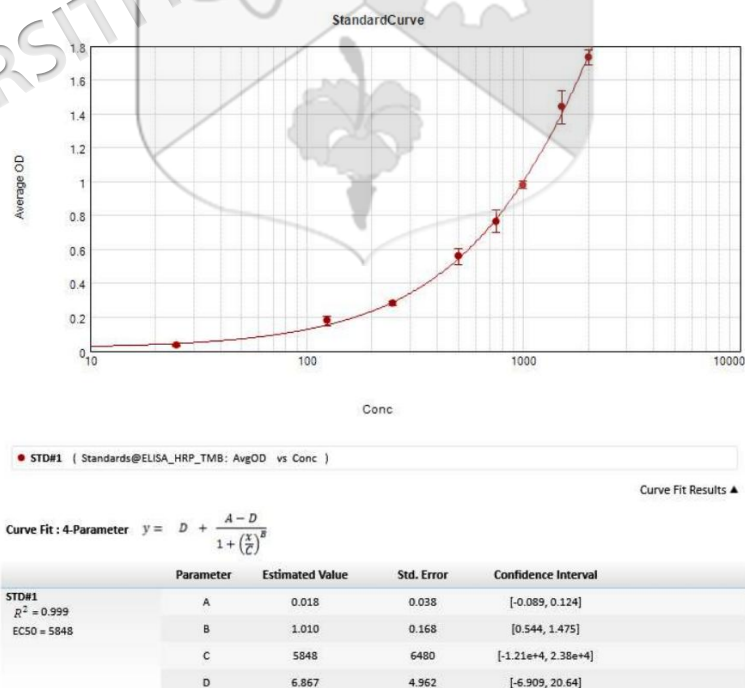
LAMPIRAN D

GRAF PIAWAI ASAI BCA BAGI EKSTRAK PROTEIN DENGAN MENGGUNAKAN RIPA DAN PBS

Graf Piawai Ekstrak Protein RIPA



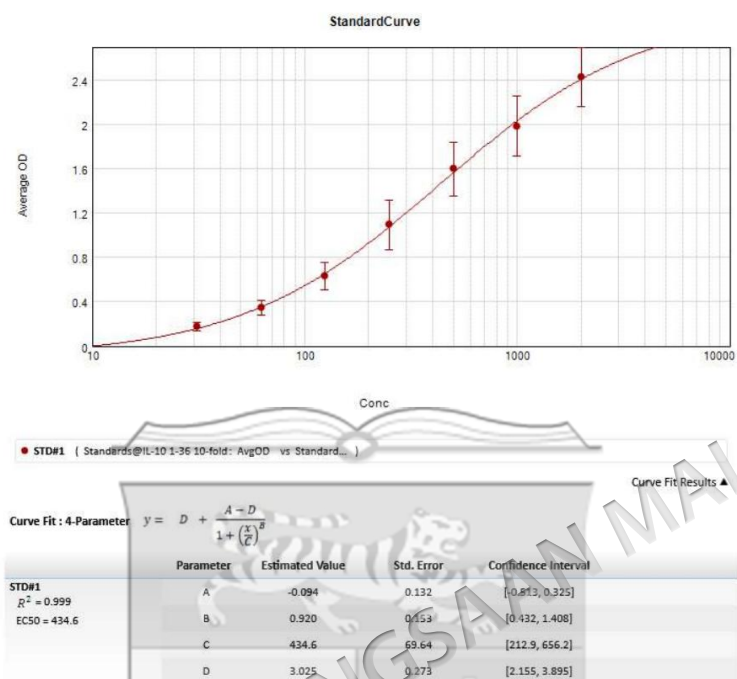
Graf Piawai Ekstrak Protein PBS



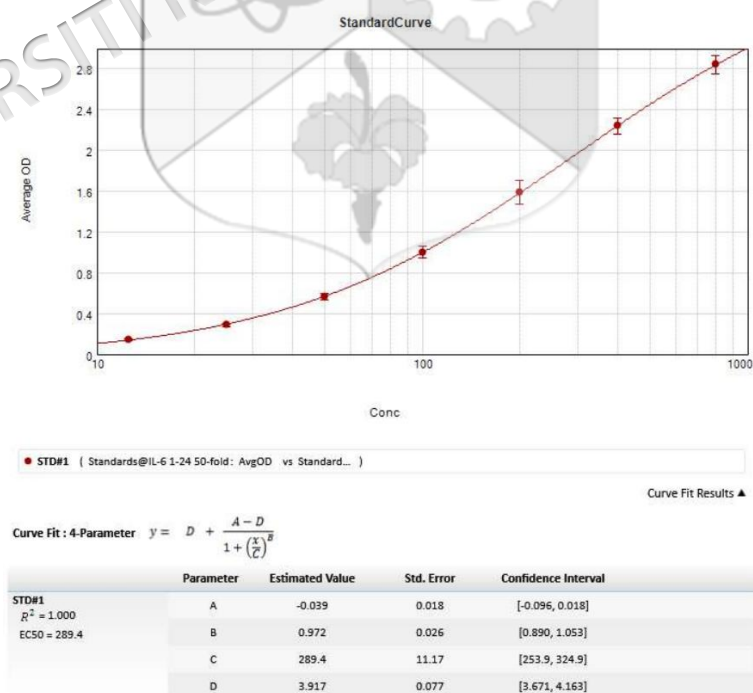
LAMPIRAN E

GRAF PIAWAI ELISA BAGI IL-10, IL-6, IL-1B DAN TNF-A

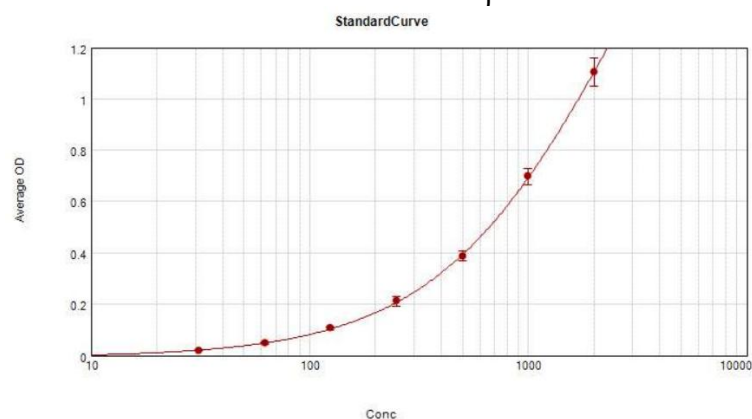
Graf Piawai IL-10



Graf Piawai IL-6



Graf Piawai IL-1 β



STD#1 { Standards@IL-1B 1-30 32 33: AvgOD vs Conc }

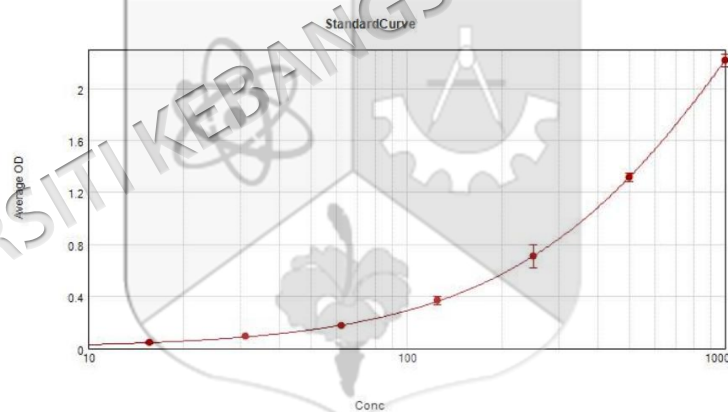
Curve Fit Results ▲

Curve Fit : 4-Parameter $y = D + \frac{A - D}{1 + (\frac{x}{C})^B}$

Parameter	Estimated Value	Std. Error	Confidence Interval
A	-0.006	0.007	[-0.028, 0.015]
B	1.020	0.045	[0.877, 1.163]
C	2670	448.8	[1241, 4098]
D	2.601	0.248	[1.812, 3.390]

STD#1
R² = 1.000
EC50 = 2670

Graf Piawai TNF- α



STD#1 { Standards@TNF 1-24: AvgOD vs Standard... }

Curve Fit Results ▲

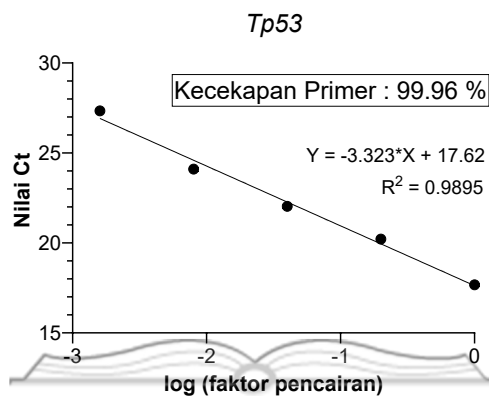
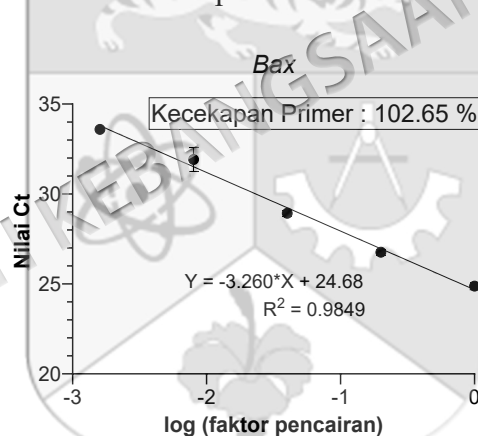
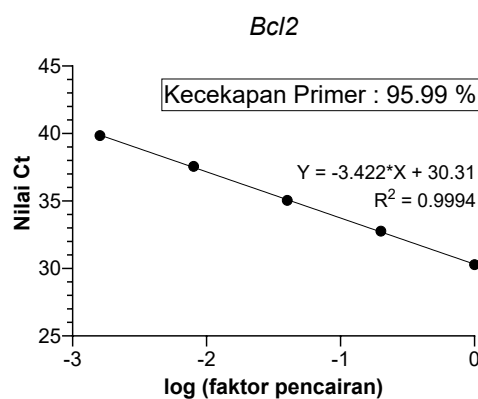
Curve Fit : 4-Parameter $y = D + \frac{A - D}{1 + (\frac{x}{C})^B}$

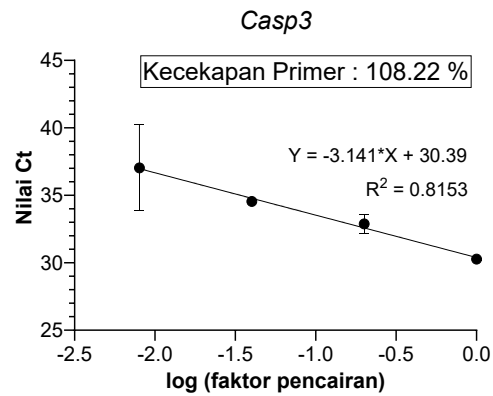
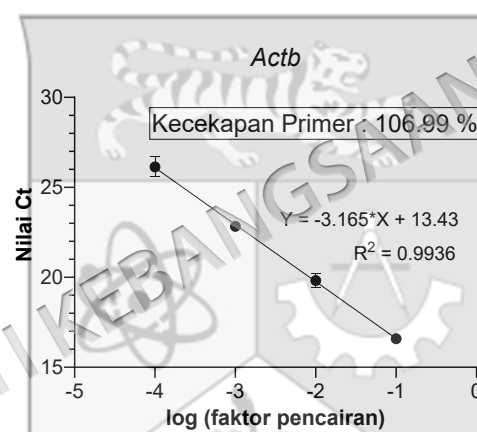
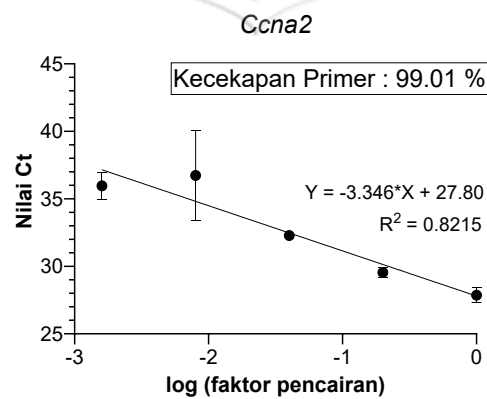
Parameter	Estimated Value	Std. Error	Confidence Interval
A	0.004	0.005	[-0.010, 0.019]
B	1.077	0.018	[1.019, 1.134]
C	1563	110.5	[1212, 1915]
D	5.797	0.253	[4.993, 6.601]

STD#1
R² = 1.000
EC50 = 1563

LAMPIRAN F

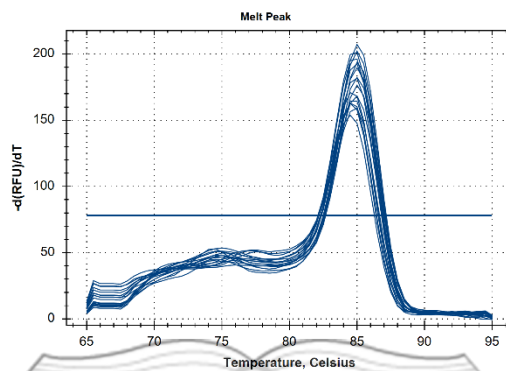
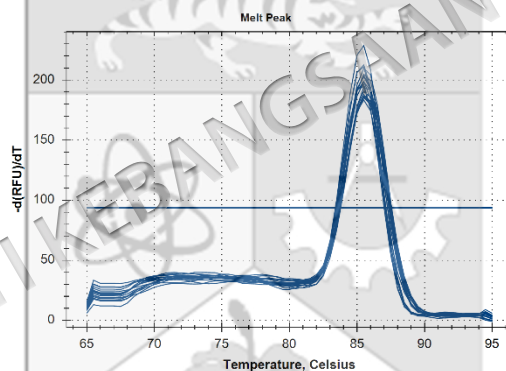
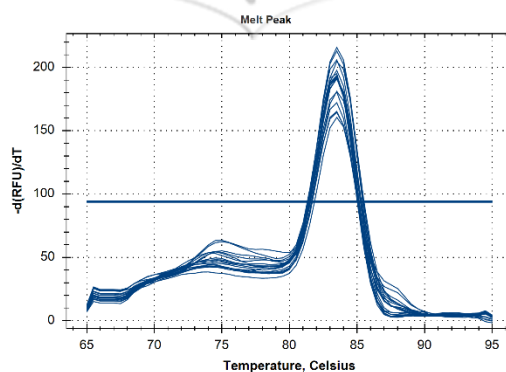
KECEKAPAN PRIMER RT-qPCR BAGI TP53, BAX, BCL2, CASP3, ACTB & CCNA2

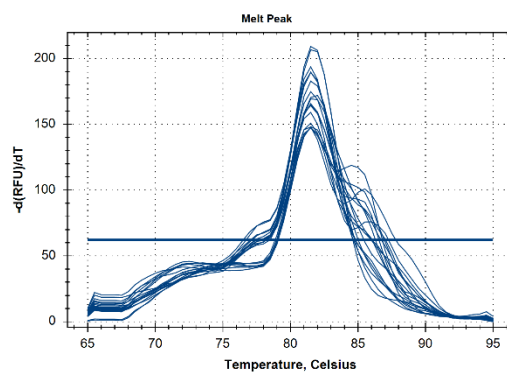
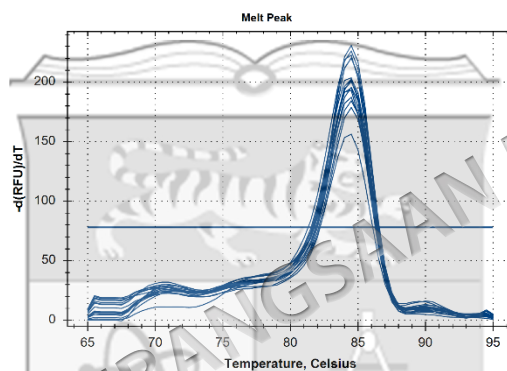
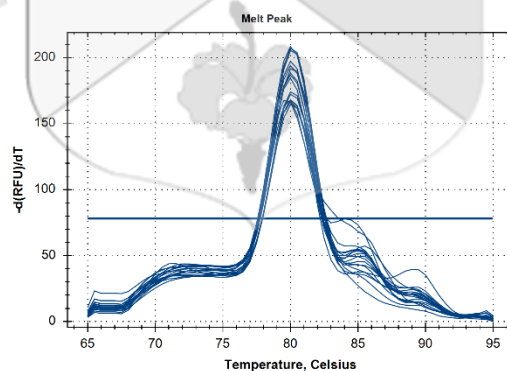
Kecekapan Primer *Tp53*Kecekapan Primer *Bax*Kecekapan Primer *Bcl2*

Kecekapan Primer *Casp3*Kecekapan Primer *Actb*Kecekapan Primer *Ccna2*

LAMPIRAN G

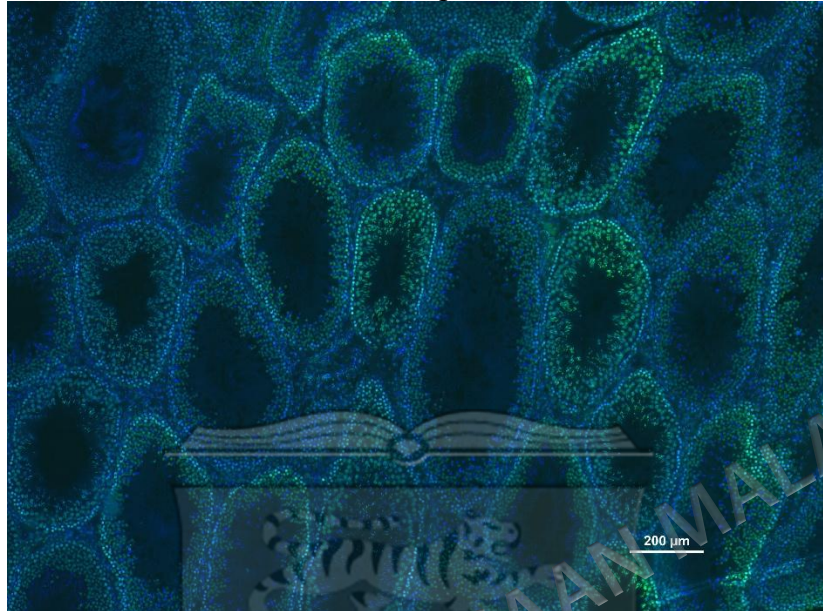
WAKILAN PUNCAK LEBUR RT-qPCR BAGI TP53, BAX, BCL2, CASP3, ACTB & CCNA2

Wakilan Puncak Lebur *Tp53*Wakilan Puncak Lebur *Bax*Wakilan Puncak Lebur *Bcl2*

Wakilan Puncak Lebur *Casp3*Wakilan Puncak Lebur *Actb*Wakilan Puncak Lebur *Ccna2*

LAMPIRAN H**IMEJ KAWALAN POSITIF DAN NEGATIF BAGI PEWARNAAN TUNEL**

Kawalan positif



Kawalan negatif



LAMPIRAN I

SENARAI PENERBITAN

Prolonged 3.5 GHz and 24 GHz RF-EMF Exposure Alters Testicular Immune Balance, Apoptotic Gene Expression, and Sperm Function in Rats
 Biomedicines 2025, 13, 2471; <https://doi.org/10.3390/biomedicines13102471>

Submission received: 12 September 2025 / Revised: 8 October 2025 / Accepted: 8 October 2025 / Published: 11 October 2025

Index: Web of Science Core Collection: Science Citation Index Expanded (SCIE)
Journal Impact Factor: 4.5 (JCR 2025)
Quartile JCR: Q2 Medicine, Research and Experimental



Article

Prolonged 3.5 GHz and 24 GHz RF-EMF Exposure Alters Testicular Immune Balance, Apoptotic Gene Expression, and Sperm Function in Rats

Syed Muhamad Asyraf Syed Taha ¹, Farah Hanan Fathihah Jaffar ¹, Atikah Hairulazam ¹, Sivasatyan Vijay ¹,
 Norazurashima Jamaludin ², Aini Farzana Zulkifli ¹, Mohd Farisyan Mat Ros ¹, Khairul Osman ²,
 Zahriladha Zakaria ³, Mohd Amyrul Azuan Mohd Bahar ⁴ and Siti Fatimah Ibrahim ^{1,*}

¹ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), Jalan Yaacob Latif, Bandar Tun Razak, Cheras, Kuala Lumpur 56000, Malaysia; p126219@siswa.ukm.edu.my (S.M.A.S.T.); farahhnan@pkm.edu.my (E.H.F.); p129544@siswa.edu.ukm.my (A.H.); p133758@siswa.ukm.edu.my (S.V.); ainiurazana@ukm.edu.my (A.F.Z.); mofarisyam@ukm.edu.my (M.F.M.R.)

² Forensic Science Program, Center for Diagnostic, Therapeutic and Investigative Studies (CODTIS), Faculty of Health Sciences, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), Jalan Raja Muda Abdul Aziz, Kuala Lumpur 50300, Malaysia; norazurashimajamaludin@gmail.com (N.J.); khairul@ukm.edu.my (K.O.)

³ Faculty of Electronics & Computer Technology and Engineering, Universiti Teknikal Malaysia (UteM), Hang Tuah Jaya, Durian Tunggal 76100, Melaka, Malaysia; zahriladha@gmail.com

⁴ Intel Microelectronics (M) Sdn. Bhd., Bayan Lepas Technoplex, Medan Bayan Lepas, Bayan Lepas 11900, Pulau Pinang, Malaysia; amyru.azuan.mohd.bahar@intel.com

* Correspondence: timi@ukm.edu.my

Abstract

Background/Objectives: The rapid rollout of 5G has renewed interest in potential reproductive effects of mid-band (3.5 GHz) and millimeter-wave (24 GHz) radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF). We examined frequency- and duration-dependent changes in testicular cytokines, apoptosis-related genes, and sperm quality in rats. **Methods:** Male Sprague Dawley rats (n = 6 per group) were exposed for 60 days to 3.5 GHz or 24 GHz RF-EMF for 1 h/day or 7 h/day. The sham controls were housed identically. Testicular expressions of IL-10, IL-6, IL-1 β , and TNF- α were quantified; *Tp53*, *Bax*, *Bcl2*, and *Casp3* mRNA expressions were measured; and sperm concentration, viability, and motility were evaluated. **Results:** IL-10 was significantly reduced in the 24 GHz group at both 1-h and 7-h exposure duration. At 7 h, TNF- α was also lower at 24 GHz. *Casp3* expression was higher and *Tp53* was lower at 3.5 GHz at 1-h exposure duration. Sperm concentration and viability were reduced after 24 GHz exposure at 7 h, while sperm motility was reduced after 3.5 GHz exposure at both durations. **Conclusions:** Exposure to RF-EMF 3.5 GHz primarily impacts sperm motility via extrinsic pro-apoptotic pathways, while exposure to 24 GHz impacts sperm concentration and viability potentially through immune-apoptotic mechanisms, with all negative effects amplified by 7-h daily exposure.

Keywords: 5G RF-EMF; testicular function; apoptosis; cytokines; sperm quality



Academic Editor: Chi Chiu Wang

Received: 12 September 2025

Revised: 8 October 2025

Accepted: 8 October 2025

Published: 11 October 2025

Citation: Syed Taha, S.M.A.; Jaffar, F.H.F.; Hairulazam, A.; Vijay S.; Jamaludin, N.; Zulkifli, A.F.; Mat Ros, M.F.; Osman, K.; Zakaria, Z.; Mohd Bahar, M.A.A.; et al. Prolonged 3.5 GHz and 24 GHz RF-EMF Exposure Alters Testicular Immune Balance, Apoptotic Gene Expression, and Sperm Function in Rats. *Biomedicines* 2025, 13, 2471. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13102471>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The rapid expansion of wireless communication technologies, particularly the global rollout of fifth-generation (5G) networks has increased environmental exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) across a wide range of frequencies. The biological effects of low-frequency RF-EMF (below 2.45 GHz) are relatively well established. However, recent studies suggest that higher frequencies may also induce notable biological

Testicular Heat-Shock Protein Expression in Rats Following 3.5 GHz and 24 GHz RF-EMF Exposure

International Journal of Molecular Sciences 2026, 27, 3452;
<https://doi.org/10.3390/ijms27083452>

Submission received: 9 March 2026 / Revised: 6 April 2026 / Accepted: 10 April 2026 / Published: 12 April 2026

Index: Web of Science Core Collection: Science Citation Index Expanded (SCIE)

Journal Impact Factor: 5.6 (JCR 2025)

Quartile JCR: Q1 *Biochemistry and Molecular Biology*



International Journal of
Molecular Sciences



Article

Testicular Heat-Shock Protein Expression in Rats Following 3.5 GHz and 24 GHz RF-EMF Exposure

Syed Muhamad Asyraf Syed Taha ¹, Farah Hanan Fathihah Jaffar ^{1,*}, Atikah Hairulazam ¹, Sivasatyan Vijay ¹, Norazurashima Jamaludin ², Aini Farzana Zulkefli ¹, Mohd Farisyan Mat Ros ¹, Khairul Osman ², Zahriladha Zakaria ³, Mohd Amyrul Azuan Mohd Bahar ⁴ and Siti Fatimah Ibrahim ^{1,*}

- ¹ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), Jalan Yaacob Latif, Bandar Tun Razak, Cheras, Kuala Lumpur 56000, Federal Territory, Malaysia; p126219@siswa.ukm.edu.my (S.M.A.S.T.); p129544@siswa.ukm.edu.my (A.H.); p133758@siswa.ukm.edu.my (S.V.); ainfarzana@ictm.ukm.edu.my (A.F.Z.); mdfarisyam@ukm.edu.my (M.F.M.R.)
- ² Forensic Science Program, Center for Diagnostic, Therapeutic and Investigative Studies (CODTIS), Faculty of Health Sciences, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), Jalan Raja Muda Abdul Aziz, Kuala Lumpur 50300, Federal Territory, Malaysia; norazurashimajamaludin@gmail.com (N.J.); khairul@ukm.edu.my (K.O.)
- ³ Faculty of Electronics & Computer Technology and Engineering, Universiti Teknikal Malaysia (UTeM), Hang Tuah Jaya, Durian Tunggal 76100, Melaka, Malaysia; zahriladha@gmail.com
- ⁴ Intel Microelectronics (M) Sdn. Bhd., Bayan Lepas Technoplex, Medan Bayan Lepas, Bayan Lepas 11900, Pulau Pinang, Malaysia; amyru.azuan.mohd.bahar@intel.com
- * Correspondence: farahhanan@ukm.edu.my (F.H.F.J.); tmi@ukm.edu.my (S.F.I.)

Abstract

The expansion of fifth-generation (5G) wireless networks has increased environmental exposure to mid-band and millimeter-wave radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF), but their molecular effects on male reproductive tissues remain insufficiently understood. This study evaluated whether repeated exposure to 3.5 GHz and 24 GHz RF-EMF alters testicular stress-associated molecular responses by integrating electromagnetic dosimetry with an in vivo rat model. Whole-body specific absorption rate (SAR) and 10 g peak SAR were estimated using a rat voxel model and scaled to the 20 cm antenna-to-cage geometry used during exposure. Thirty-six adult male Sprague Dawley rats were allocated to sham, 3.5 GHz, or 24 GHz groups and exposed for 1 h/day or 7 h/day over 60 days. Testes were examined histologically and assessed for HSP27, HSP70, and HSP90 protein expression. SAR values were low overall, although absorption was higher at 3.5 GHz than at 24 GHz. Histological evaluation showed preserved seminiferous tubule architecture without consistent structural injury. In contrast, molecular analysis demonstrated frequency- and duration-dependent modulation of heat shock proteins, including early HSP70 downregulation at both frequencies, followed by HSP90 upregulation at 3.5 GHz and HSP27 upregulation at 24 GHz. These findings indicate that low-level 5G-relevant RF-EMF exposure can modify molecular stress responses in testicular tissue even in the absence of overt histological damage.

Keywords: electromagnetic fields; heat shock protein; reproductive health; Western blotting; non-ionizing

1. Introduction

Fifth-generation (5G) networks use both mid-band frequencies around 3.5 GHz and millimeter-wave (mmWave) bands, such as 24 to 28 GHz, to increase capacity and data rates



Academic Editors: Anna Nynca and Alexander Baykov

Received: 9 March 2026

Revised: 6 April 2026

Accepted: 10 April 2026

Published: 12 April 2026

Copyright: © 2026 by the authors.

Licensee MDPI, Basel, Switzerland.

This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license.

LAMPIRAN J

SENARAI PEMBENTANGAN

